

ОТЗЫВ

официального оппонента, д.м.н., доцента Цейликман Ольги Борисовны на диссертационную работу *Сарапульцева Алексея Петровича* на тему: **«Патофизиологические механизмы развития дистресса и обоснование поиска фармакологических препаратов стресс-лимитирующего действия (теоретико-экспериментальное исследование)»**, представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность избранной темы. Актуальность темы диссертационной работы обусловлена как широкой распространенностью и высокой тяжестью инфаркта миокарда, так и существенным вкладом стрессорного и воспалительного компонентов в патогенез данного заболевания. При этом, несмотря на то, что изучение патогенеза и поиск новых средств лекарственной терапии инфаркта миокарда являются одними из наиболее распространенных тем медико-биологических исследований, крайне мало работ нацелено на поиск взаимосвязей стрессорной и воспалительной реакций с развитием инфаркта миокарда и на вычленение вклада последних в течение заболевания. Еще более редко проводятся исследования, направленные на поиск новых классов лекарственных средств, мишенями которых является стрессорная реакция. В то же время, согласно известным работам Y. Wang (2014) и S. Shi (2014), стрессорная реакция приводит к усилению постинфарктного ремоделирования, что сопровождается повышенной частотой развития жизнеугрожающих аритмий, а применение антидепрессантов, таких как селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, уменьшает размеры формирующегося инфаркта миокарда и снижает степень его постинфарктного ремоделирования.

При этом основной акцент в диссертационной работе Сарапульцева А.П. был сделан именно на поиске новых патогенетически обусловленных мишеней дистресс-синдрома при инфаркте миокарда. В комплексе с проведенным системным анализом *in silico* мультитаргетного механизма действия биологически активных соединений ряда замещенных 1,3,4-тиадиазинов, полученные данные позволили автору представить новый способ терапии инфаркта миокарда, подтвержденный в экспериментах *in vivo*. В результате, впервые было показано, что биологически активные соединения группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов, оказывающие действие на центральные механизмы стрессорной реакции, вызывают выраженное изменение патоморфологических характеристик инфаркта миокарда, что проявляется в виде снижения его размеров (формировании только субэпикардального инфаркта), изменения клеточной реакции в зоне повреждения, характеризующейся снижением содержания нейтрофилов и увеличением

макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации, и ускорения темпов репарации.

Таким образом, направленность представленной работы на изучение механизмов патогенеза инфаркта миокарда и теоретическое обоснование нового метода патогенетической терапии заболевания на примере биологически-активных химических соединений обуславливает несомненную актуальность исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование имеет четкую логическую структуру: цель соответствует теме работы, задачи способствуют достижению цели, выводы и рекомендации основываются на фактическом материале и соответствуют поставленным целям и задачам. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется описанной теоретической базой, состоящей из трудов как отечественных, так и зарубежных ученых, достоверностью материала и адекватностью примененных методов математического анализа полученных данных.

В соответствии с поставленной целью диссертационного исследования Сарапульцевым А.П. было проведено теоретико-биоинформационно-экспериментальное обоснование нового метода патогенетической терапии инфаркта миокарда на примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов. В работе был выявлен набор потенциальных мишеней стрессорной и воспалительной реакции, вовлеченных в патогенез заболевания, доказана принципиальная возможность взаимодействия с ними исследуемых веществ, рассчитаны силы взаимодействия и аффинность примененных химических соединений к выделенным молекулярным мишеням, проведено экспериментальное обоснование полученных результатов в серии экспериментов *in vivo*. Полученные и описанные автором результаты позволяют считать поставленные задачи диссертационной работы решенными, а цель достигнутой.

Научная новизна. Научная новизна работы соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени доктора наук. Автором впервые был определен набор биологических мишеней, воздействие на которые способно вызвать снижение дистресса и оказывать выраженный кардиопротективный эффект. Автором впервые, методами молекулярного моделирования и квантовой механики, был проведен анализ *in silico* мультитаргетного действия нового класса химических соединений, в ходе экспериментов *in vivo* на моделях инфаркта миокарда и иммобилизационного стресса показан их эффект. Впервые было продемонстрировано снижение

выраженности системного воспаления при инфаркте миокарда, что приводило к уменьшению размеров зоны повреждения и предотвращало рецидивирование патологического процесса.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в определении круга биологических мишеней, воздействие на которых при инфаркте миокарда способствует более мягкому протеканию заболевания. При этом действие на указанные мишени способствует также и снижению интенсивности системного воспаления, развивающегося при инфаркте миокарда, что составляет основу принципиально нового подхода к лечению целого ряда заболеваний, не ограничивающегося сердечно-сосудистыми. Также теоретическая значимость работы обусловлена результатами проведенного анализа *in silico*, определившего спектр биологической активности перспективного класса химических соединений, что сформировало базу для дальнейших углубленных исследований 1,3,4-тиадиазинов.

Научно-практическая значимость работы заключается в апробации методики определения спектра биологической активности и предсказания потенциальных сфер применимости химических веществ. Подобные методики обладают несомненной научно-практической значимостью, так как являются намного менее затратными, чем классические скрининговые методики определения биологической активности химических соединений, обладающие при том не менее высокой (до 90%) чувствительностью. Вследствие этого, полученные автором результаты могут использоваться в работе теоретических и практических кафедр как ВУЗов биологической и медицинской направленности, так и химической.

Вышеизложенное позволяет признать высокую теоретическую и практическую значимость представленной работы.

Публикации. По тематике диссертации Сарапульцевым А.П. опубликовано 32 печатных работы, в том числе: 13 – в изданиях, рецензируемых ВАК, из них 8 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в электронных базах данных Scopus и Web of Science; 19 – в других изданиях, из них зарубежных – 8; получено 3 патента РФ на изобретения.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Все научные положения диссертационной работы обоснованы. Выводы и заключения работы являются ответом на поставленные задачи и соответствуют ее содержанию, результатам проведенного научного анализа. Выводы и заключения диссертационной работы опираются на достаточную теоретическую базу, глубокий и аргументированный анализ полученных результатов, осуществленный на высоком методологическом уровне, в том числе с применением

специализированных программ Statistica v. 8.0 for Windows и IBM SPSS Statistics 19. Достоверность результатов и их соответствие использованному материалу исследования подтверждена актом проверки первичной документации, организация исследования одобрена этическим комитетом ФГБУН ИИФ УрО РАН.

Личный вклад Сарапульцева А.П. состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования, проведении экспериментов и обработке полученных результатов. Планирование научной работы, постановка цели и задач проводились совместно с научными консультантами – Маргаритой Владимировной Черешневой, ЗДН РФ, д.м.н., профессором, и Ириной Георгиевной Даниловой, д.б.н., доцентом. План и программа исследования разработаны лично автором, проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, осуществлена математическая обработка полученных данных, интерпретация и анализ полученных результатов, написана и оформлена рукопись диссертации, представлены результаты работы в научных публикациях и в виде докладов на различных конгрессах, конференциях и форумах.

Характеристика работы. Диссертация изложена на 300 страницах машинописного текста, состоит из введения, главы обзора литературы, главы материалы и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, а также списка литературы, включающего в себя 391 источник, из них 79 отечественных и 312 зарубежных, и приложения. Работа содержит 36 таблиц, 47 рисунков.

Работа поддержана рядом грантов, в том числе РФФИ – «Урал» 07-04-96122 «Экспериментальное изучение принципиально нового подхода к лечению инфаркта миокарда и панкреонекроза с применением препаратов группы тиаминов (соединение “117”») (2007-2009) и программами Президиума УрО РАН 09-П-4-3001 «Разработка препаратов нового поколения и выявление механизмов их гипометаболического и терапевтического действия» (2009-2011), 2-М-34-2064 «Системные защитные реакции организма при стрессе и их коррекция производными 1,3,4-тиадиазиннов» (2011-2013), 15-3-4-27 (2015-2017) «Мишень-ориентированный поиск биологически активных соединений, влияющих на патогенетически важные звенья воспалительной и стрессорной реакций, лежащих в основе стрессорной кардиомиопатии, с использованием технологий компьютерного моделирования, медицинской химии и биологии».

Во «Введении» автор четко обосновывает выбор темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и основные положения, выносимые на защиту. Автором изложена актуальность, новизна исследования и практическая значимость работы. В обзоре литературы автором представлены ключевые данные

о эпидемиологии и патогенезе инфаркта миокарда, рассмотрены понятия стресса и дистресса. Отдельно подробно описано влияние стрессорной реакции как на инициацию повреждения миокарда, так и влияние стресса/депрессии на уже сформировавшийся инфаркт миокарда. Также описаны известные экспериментальные подходы лечения инфаркта миокарда путем воздействия на иммунную систему, а также воспалительную и стрессорную реакции; обоснована необходимость новых подходов к лечению заболевания.

В главе «Материалы и методы исследования» дано подробное описание методики проведения компьютерных расчетов *in silico*. Также описаны используемые в диссертационной работе экспериментальные модели инфаркта миокарда и иммобилизационного стресса, представлен план исследования с описание лабораторных методов анализа и оценки. Автором использован достаточный набор современных методов, которые обеспечили надежность полученных результатов. Результаты расчетов и исследований адекватно обработаны математически с использованием современных статистических программ.

Результаты собственных исследований описаны в трех главах.

В 3 главе приведены результаты компьютерного прогноза *in silico* биологических свойств соединений ряда 1,3,4-тиадиазина: определены желательные биологические мишени действия химических соединений, рассчитана аффинность последних, созданы 3D-модели взаимодействия и приведены данные ландшафтного анализа.

Глава 4 посвящена экспериментальному исследованию действия 1,3,4-тиадиазинов при экспериментальном инфаркте миокарда. Автором подробно описан комплекс гистоморфологических изменений, клеточная реакция и цитокиновый профиль плазмы крови, а также изменения ферментов и трансаминаз на разные сроки инфаркта миокарда.

Глава 5 посвящена экспериментальному исследованию действия 1,3,4-тиадиазинов при экспериментальном стрессе. Автором описан комплекс гистоморфологических изменений в органах-мишенях стрессорной реакции у экспериментальных животных, приведены данные гематологического анализа и результаты биохимических исследований.

Результаты исследований обобщены и обсуждены в главе «Заключение». Описаны основные молекулярные мишени терапевтического действия при инфаркте миокарда, и эффекты от их блокады/активации. Проведенный анализ полученных результатов позволил автору обосновать новый комплексный патогенетически подтвержденный подход к терапии инфаркта миокарда на

примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов. Семь выводов диссертации четко сформулированы и непосредственно вытекают из собственных данных автора.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» и ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», а также используются научных разработках Института Иммунологии и Физиологии УрО РАН, что свидетельствует о их научной ценности и актуальности.

По ходу рассмотрения работы возник ряд вопросов.

Единственное замечание, которое возникло при ознакомлении с материалами диссертации, касается интерпретации полученных результатов. Автор рассматривает несколько разобщенно данные, полученные на модели дистресса, и данные, полученные на экспериментальной модели инфаркта миокарда. Между тем дистресс является фактором, провоцирующим развитие инфаркта миокарда. Поэтому данные, касающиеся 4 главы, можно было рассмотреть как доказательство профилактической эффективности препарата применительно к заболеваниям, вызванных дистрессом. Соответственно данные, представленные в 5 главе, рассматриваются в фокусе корригирующего действия препарата. При таком рассмотрении просто напрашивается сопоставление профилактического и терапевтического эффекта препарата, возвращающее назад к данным, полученным *in silico*. Подобное сопоставление смотрелось бы украшением работы.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы также возникли некоторые вопросы, носящие дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. Какие имеются доказательства правомерности Вашего представления о наличии у 1,3,4-тиадиазина свойств ингибиторов обратного захвата серотонина, дофамина и норадреналина. Располагаете ли Вы данными анализа *in silico* или у Вас есть экспериментальные доказательства?
2. Вы декларируете мультитаргетность 1,3,4-тиадиазина. Тогда, какие из мишеней наиболее существенны в реализации антистрессорного эффекта препарата. Можете ли Вы среди этих мишеней выявить вовлеченные в патогенетические механизмы дистресса?
3. Пожалуйста, обозначьте, наиболее иллюстративные экспериментальные результаты, которые могут быть объяснены на основании данных анализа *in silico*?

