

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента Новикова Василия Егоровича, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного работника высшей школы РФ на диссертацию Денисюк Татьяны Алексеевны «Фармакотерапевтические стратегии коррекции эндотелиальной дисфункции с использованием статинов при эндотоксин-индуцированной патологии», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

### **Актуальность темы исследования**

Интегральная роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса, гемостаза, обмена растворенных веществ между кровью и тканями, а также многих других физиологических процессов позволяет рассматривать поиск и изучение соединений с эндотелиопротективной активностью как одну из актуальных задач современной фармакологии. При этом, в зависимости от этиологического фактора, подходы к коррекции эндотелиальной дисфункции (ЭД) могут быть принципиально различными.

Не исключением является ЭД при системной воспалительной реакции, описанная в терминах липидного дистресс-синдрома академиком РАН В.С. Савельевым и профессором В.А. Петуховым. При длительном стрессирующем воздействии (инфекционной, травматической и др. природы) происходит ряд нарушений гомеостатической регуляции обменных процессов, включая нарушение энтерогепатической циркуляции желчных кислот и гиперхолестеринемию, что провоцирует морфофункциональные нарушения сосудистой стенки.

В связи с вышеизложенным, автор отмечает необходимость поиска стратегий коррекции ЭД на фоне эндотоксин-индуцированной патологии. И предполагает, что при повреждении эндотелиоцитов на фоне системной воспалительной реакции, вызванной эндотоксинемией, одним из стратегически обоснованных подходов является применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (статинов), поскольку данная группа препаратов имеет ряд плеiotропных эффектов, включая антиоксидантный, антиагрегантный и противовоспалительный.

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций**

В диссертации Т.А. Денисюк впервые проведено комплексное изучение влияния ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы, а также донатора оксида азота (NO) L-аргинина, неселективного ингибитора аргиназы ВЕС, селективного ингибитора аргиназы II аргиназина (лабораторный шифр ZB-049) и цитопротектора дарбэпоэтина на функцию эндотелия на фоне двух экспериментальных моделей ЭД: эндотоксин-индуцированной и L-NAME-индуцированной.

Автором впервые исследован противовоспалительный дозозависимый эффект ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в режиме монотерапии и в комбинации с L-аргинином, ВЕС, аргиназином и дарбэпоэтином на моделях экссудативного воспаления у кроликов по Ойвину и формалинового отека стопы мышей. Применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина в исследуемом диапазоне доз привело к снижению воспалительной реакции при обеих моделях воспаления. Также впервые проведена оценка влияния указанных препаратов на биохимические маркеры воспаления – ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и С-реактивный белок при эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции (ЭИЭД).

Автором впервые выявлено, что кардиопротективный эффект статинов на модели коронаро-окклюзионного инфаркта у крыс реализуется за счет вклада митохондриальных АТФ-зависимых  $K^+$ -каналов и индуцибельной NO-синтазы. При этом показано, что кардиопротективный эффект симвастатина реализуется в большей степени через митохондриальные  $K^+$ -АТФ-азные каналы, а розувастатина – через индуцибельную NO-синтазу.

Научная новизна работы подтверждается получением 17 патентов РФ на изобретения по результатам проведенного исследования.

### **Практическая значимость исследования**

Результаты проведенного исследования эффективности фармакотерапевтических схем с применением статинов при коррекции ЭИЭД обосновывают перспективность использования ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы, эндотелиопротекторов L-аргинина, аргиназина и ВЕС, а также дарбэпоэтина в комплексной терапии ряда заболеваний, сопровождающихся системной воспалительной реакцией.

Полученные результаты позволяют рекомендовать ряд исследуемых препаратов для профилактики развития кардиоваскулярных осложнений у пациентов хирургического, травматологического, реаниматологического и комбустиологического профиля.

Кроме того, выяснение роли  $K^+$ -АТФ-зависимых каналов и индуцибельной NO-синтазы в развитии кардиопротекторных эффектов статинов открывает новые сведения о фармакодинамике данной фармакологической группы.

Научно-практическая значимость подтверждается также тем, что часть исследований по изучению фармакологической активности селективного ингибитора аргиназы II аргиназина проведена в рамках государственной программы «ФАРМА-2020»

Полученные Т.А. Денисюк результаты включены в материалы лекций и практических занятий для студентов, аспирантов и ординаторов Курского государственного медицинского университета, Орловского государственного университета, Белгородского государственного национального исследовательского университета и Воронежского государственного медицинского университета.

## **Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы**

Высокая степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, вытекающих из результатов диссертационной работы Денисюк Т.А., подтверждается хорошо проработанным дизайном исследования, проведением многогранного изучения фармакологической активности тестируемых препаратов, использованием высокоточного современного оборудования, а также применением адекватных методов статистической обработки полученных данных.

## **Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации**

В диссертационной работе Т.А. Денисюк использованы современные методические подходы моделирования местного и системного воспаления, дисфункции эндотелия и кардиальной патологии, соответствующие «Руководству по проведению доклинических исследований» и выполненные с соблюдением биоэтических норм гуманного обращения с животными. Обработка результатов исследования проведена с использованием адекватных и современных методов статистического анализа. Научный труд оформлен в соответствии с существующими требованиями и изложен на 350 страницах машинописного текста, содержит 59 таблиц и 34 рисунка, а также представлен следующими главами: введение, обзор литературы (глава 1), материалы и методы исследования (глава 2), результаты собственных исследований (главы 3-10), заключение, выводы, научно-практические рекомендации. В конце работы приведен список используемой литературы, включающий 512 зарубежных и 113 отечественных источников.

Во введении содержится обоснование актуальности темы диссертационного исследования, степень разработанности проблемы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, внедрение результатов исследования, личный вклад автора.

В обзоре литературы автором проведен подробный анализ зарубежной и отечественной литературы, описан патогенез ЭД при системном воспалении, намечены основные мишени фармакологического воздействия, представлены обобщающие схематические иллюстрации, в том числе, созданные лично автором. В проведенном анализе литературных данных акцентируется внимание на накопленном экспериментальном и клиническом опыте, касающемся применения ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы при различных патологических состояниях сердечно-сосудистой системы, описаны механизмы развития плеiotропных эффектов статинов.

В главе «Материалы и методы исследования» содержится описание дизайна исследования, используемых животных, подробное описание методик, реактивов, лекарственных препаратов и субстанций. Алгоритм проведения исследования выстроен логично, основные методики

соответствуют правилам, изложенным в руководстве по проведению доклинических исследований.

Основные этапы исследования: 1) Оценка противовоспалительной активности ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в разных дозах на кроликах и мышах; 2) Оценка кардиопротективной активности ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы на крысах при моделировании коронаро-окклюзионного инфаркта миокарда; 3) Создание модели ЭИЭД на крысах, оценка эндотелиопротективной активности статинов на моделях ЭИЭД и ADMA-подобной L-NAME-индуцированной ЭД. 4) Оценка эндотелиопротективной активности L-аргинина, аргиназина, ВЕС и дарбэпоэтина на моделях ЭИЭД и L-NAME-индуцированной ЭД в режиме монотерапии и в комбинации со статинами.

Глава 3 посвящена изучению противовоспалительной активности ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в разных дозах на кроликах и мышах. При введении формалина в стопу задней конечности мышей статины проявляли дозозависимый противовоспалительный эффект, выражавшийся в снижении степени прироста массы стопы по сравнению с интактными животными. При этом наиболее выраженную активность продемонстрировал нанопартикулированный розувастатин.

При изучении противовоспалительного действия статинов на кроликах по методике Ойвина, ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы аторвастатин, симвастатин, розувастатин и нанопартикулированный розувастатин также продемонстрировали дозозависимый антиэкссудативный эффект с наиболее выраженным действием при применении нанопартикулированного розувастатина.

Глава 4 посвящена оценке кардиопротективной активности ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы на крысах при моделировании коронаро-окклюзионного инфаркта миокарда. Представленные результаты показали, что применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы симвастатина, аторвастатина, розувастатина и нанопартикулированного розувастатина оказало дозозависимое кардиопротективное действие. Также было выявлено, что в реализации кардиопротективных эффектов существенное значение имеют механизмы ишемического прекондиционирования. При этом показано, что кардиопротективный эффект симвастатина реализуется в большей степени через митохондриальные  $K^+$ -АТФ-азные каналы, а розувастатина – через индуцибельную NO-синтазу.

Глава 5 посвящена разработке модели ЭИЭД с помощью заражения крыс линии Wistar золотистым стафилококком подкожно (60 миллиардов микробных тел штамма 603) с последующим пневматическим массажем места инъекции и оценке эндотелиопротективной активности статинов на моделях ЭИЭД и ADMA-подобной L-NAME-индуцированной ЭД. Было получено, что при моделировании ЭИЭД на 7-й день происходит трехкратное увеличение КЭД по сравнению с интактными животными, а применение статинов значительно улучшает функцию эндотелия при данной патологии. На фоне моделирования L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота,

симвастатин, аторвастатин, розувастатин и нанопартикулированный розувастатин проявили выраженное эндотелио- и кардиопротективное действие, выражающееся в снижении КЭД, предупреждении роста диаметра миокардиоцитов, а также улучшении показателей сократимости миокарда при проведении функциональных проб на адренореактивность и нагрузку сопротивлением.

В главах 6-10 отражены результаты изучения эффективности L-аргинина, аргиназина, ВЕС и дарбэпоэтина при ЭД в режиме монотерапии и при комбинации с ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы. Приведенные данные свидетельствуют об эффективности используемых фармакотерапевтических схем и о наличии у ряда комбинаций аддитивного взаимодействия.

В заключении автором проведено логическое обобщение полученных результатов и их сопоставление с современными данными литературы. Диссертация завершается 10 выводами, которые соответствуют цели и задачам, поставленным во введении.

По теме диссертации опубликованы 64 печатные работы, из них 20 статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для публикаций результатов диссертаций, отражающих содержание диссертационной работы, включая 6 статей в изданиях, входящих в базы данных Scopus и Web of Science. Получено 17 патентов на изобретения РФ.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации

### **Замечания и вопросы**

Принципиальных замечаний по работе нет. При анализе диссертации возник ряд уточняющих вопросов.

1. Если рассматривать, используемую Вами модель ЭИЭД у крыс в рамках сформулированной академиком Савельевым концепции липидного дистресс-синдрома, то значимым фактором повреждения сосудистой стенки является гиперхолестеринемия, вследствие нарушения функции печени. В связи с этим два вопроса:

- Несмотря на то, что в Вашей работе акцент сделан на негиполипидемических свойствах статинов, как Вы думаете, повышался ли уровень холестерина на фоне эндотоксинемии у крыс и зависела ли эффективность используемых Вами фармакотерапевтических стратегий от их гиполипидемического эффекта?

- Почему Вы не проводили исследование биохимических маркеров повреждения печени, тем более с учетом того, что один из основных побочных эффектов статинов – гепатотоксичность?

2. Можно ли рассматривать предложенные Вами фармакотерапевтические схемы коррекции эндотелиальной дисфункции при эндотоксин-индуцированной патологии как потенциально эффективные при ЭД любой этиологии?

3. Какую роль Вы отводите эндотелину в механизме эндотелиопротективного действия изученных фармакологических комбинаций?

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Денисюк Татьяны Алексеевны «Фармакотерапевтические стратегии коррекции эндотелиальной дисфункции с использованием статинов при эндотоксин-индуцированной патологии», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченным научно-квалификационным трудом, в котором предлагается новое решение важной научной проблемы современной фармакологии – поиска эффективных способов коррекции дисфункции эндотелия на фоне эндотоксин-индуцированной патологии.

По актуальности темы и решаемых задач, новизне полученных результатов, методическому уровню, объему проведенных исследований, полноте представления результатов работы в научной печати, диссертация Денисюк Т.А. соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, для докторских диссертаций, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Доктор медицинских наук, профессор  
заведующий кафедрой фармакологии  
ФГБОУ ВО «Смоленский государственный  
медицинский университет» Минздрава России  
шифр специальности:  
14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология



В.Е. Новиков

06 мая 2019 г.

Подпись профессора В.Е. Новикова заверяю

Начальник управления кадров ФГБОУ ВО СГМУ  
Минздрава России



Т.Ю. Филатова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
"Смоленский государственный медицинский университет"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
214019, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28,  
Телефон: +7 (481) 255-02-75  
E-mail: adm@smolgm.ru

