# ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Цыгана Василия Николаевича на диссертацию Говорушкиной Наталии Станиславовны на тему: «Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 -патологическая физиология**

## Актуальность темы исследования

Невозможно переоценить роль N-метил-D-аспартатных рецепторов (NMDAR) в развитии мозга, осуществлении его когнитивной функции и прогрессировании неврологических нарушений. Эти лиганд-зависимые катионные каналы, образованные глицин-содержащими (GluN1 и GluN3A/B) и глутамат-содержащими (GluN2A, B, C и D) субъединицами демонстрируют высокую аффинность к ионам $Ca^{2+}$. Проводимость, кинетика дезактивации, а также аффинность к ингибиторам и аллостерическим модуляторам сильно различаются в зависимости от состава субъединиц NMDAR-рецепторного комплекса. Открытие роли ионотропных глутаматергических рецепторов в головном мозге привело к быстрому прогрессу в фармакологии за последние 30 лет и повлекло за собой открытие многочисленных антагонистов, нацеленных на определенные субъединицы этого рецептора или конкретные сайты специфического связывания. Эти соединения в настоящее время используются для лечения пациентов с болезнью Альцгеймера, хореей Хантингтона и различными формами деменции. Антагонисты NMDAR в ЦНС имеют ряд системных эффектов. В частности, соединения, аффинные к участку связывания 1- (1-фенилциклогексил)-пиперидина (фенциклидин, PCP) внутри поры канала рецептора (например, мемантин, кетамин и MK-801), показали противоаритмические свойства в исследованиях, смоделированных на лабораторных животных. Антагонист PCP-связывающего участка NMDAR

– Аптиганель (Церестат) уменьшает частоту аритмий, подавляет развитие ранних желудочковых комплексов и нивелирует депрессию интервала S-T у пациентов, перенесших инсульт. Элипродил, другой антагонист NMDAR, селективно взаимодействующий с глутамат-связывающей субъединицей GluN2B, в высоких дозах модулирует потребление кислорода в миокарде и вызывает пролонгирование скорректированного интервала QT (QTc). Изначально все изменения в функциональной активности сердца, провоцируемые агонистами и антагонистами NMDAR были объяснены действием этих препаратов на центральную и периферическую нервную система. Действительно, микроинъекции NMDA или глутамата непосредственно в солитарное ядро вызывают брадикардию и снижение артериального давления у крыс. Эти эффекты подавлялись антагонистами NMDA-рецепторов МК-801 и AP5. GluN1, GluN2A и GluN2B субъединицы NMDA-рецепторов были обнаружены в вагусных преганглионарных нейронах сердца крысы.

Однако эффекты агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов сохранялись и в денервированном сердце. МК-801 у крыс и кетамин у морских свинок со спонтанной ритмической активностью правого предсердия вызывал дозозависимое снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и силы сердечных сокращений. Аналогичные отрицательные инотропные и хронотропные эффекты наблюдались в изолированных сердцах кроликов и морских свинок при перфузии их растворами Кребса-Рингера или Тироде с добавлением кетамина. Полезным может оказаться определение локализации и молекулярной идентичности мишеней этих соединений. Гомоцистеин, признанный агонист NMDA-рецепторов, является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

В последнее время экспрессия субъединиц GluN1 и GluN2B NMDA-рецепторов была подтверждена в сердечной ткани нескольких видов млекопитающих. Однако не хватает подробной характеристики автономных ответов сердечной мышцы на агонисты и антагонисты NMDA-рецепторов.

Неустановленными остаются также субъединичный состав сердечных NMDA-рецепторных комплексов, а также кинетика реакций сердца на изменения активности этих рецепторов.

Именно эти важные вопросы и нашли отражение в представленной работе, что делает ее актуальной и определяет цель диссертации - выявление особенностей влияния введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Дизайн, методология, а также этапность проведенного исследования продуманы детально. Научные положения и выводы основаны на достаточном количестве лабораторных животных (90 крыс). Для получения результатов автором использованы современные диагностические методы обследования. Автор корректно использует известные научные методы обоснования полученных результатов. Сделанные автором выводы хорошо обоснованы и отражают поставленные задачи. Обоснованность полученных результатов основывается на согласованности данных исследования и научных выводов. Приведенные результаты исследования и выводы являются научно обоснованными.

**Достоверность полученных результатов и научная новизна**

Достоверность результатов работы подтверждается корректным использованием лабораторных и инструментальных методов, позволивших обосновать полученные результаты и выводы. Достоверность исследования опирается на грамотно проведенную статистическую обработку и подтверждается их сопоставлением с имеющимися в литературе данными. Полученные в диссертации результаты основаны на анализе наблюдения за 90 крысами. Методы обследования животных соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Количество обследованных животных, объем

проведенных исследований, методы статистической обработки полученных данных достаточны для получения достоверных результатов.

**Научная новизна исследования и полученных результатов**

Результаты, полученные в процессе выполнения диссертационной работы, характеризуются высокой степенью научной новизны. В представленной диссертационной работе автором впервые детально описаны результаты инструментальных показателей исследуемых животных. Исследованы и описаны эффекты воздействия агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов на кардиодинамические параметры сердца на фоне ишемии и реперфузии. Кроме этого, автором диссертации впервые показано влияние агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов на показатели оксидативного стресса в миокарде и крови крыс на фоне реперфузии после ишемии.

Правильный методологический подход автора к решению поставленных задач, достаточное число наблюдений, статистическая обработка с последующим анализом позволили получить новые результаты для патологической физиологии и сделать на их основе важные выводы. В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями в патологической физиологии.

Данные, полученные в ходе проведенного исследования, могут быть успешно использованы для дальнейшего изучения этой, несомненно, сложной и актуальной научной проблематики.

**Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Работа выполнена в соответствии с требованиями ВАК РФ ГОСТ Р 7.0.11-2011, построена по классическому принципу и включает в себя: оглавление, введение, 2 главы, общее заключение, выводы, список литературы, который содержит 15 отечественных и 182 зарубежных источников, и список сокращений. Текст диссертации изложен на 172 страницах машинописного текста, иллюстрирован 20 таблицами и 94 рисунками.

В обзоре литературы представлены современные данные о глутаматных рецепторах и их роли в организме. Детально обсуждаются последние научные данные о роли свободных радикалов и окислительно-восстановительном равновесии. Подробно представлена информация об ишемическо-реперфузионном повреждении и феномене прекондиционирования. Данная глава написана детально, хорошим литературным языком, отражает глубокие знания автора по изучаемой проблеме, содержит последние современные данные по изучаемому вопросу, легко и с интересом читается. Обзор литературы естественным образом обосновывает необходимость проведения представляемой научной работы.

В главе 2 диссертантом отражен общий объем достаточно репрезентативного материала исследования, подробно представлена модель ретроградной перфузии с постоянным давлением и потоком, описана модель аппарата Лангендорфа. Детально отображена характеристика 90 экспериментальных животных, разделенных на 9 групп, и методика экспериментального протокола. В главе описаны биохимические методы анализа крови животных. В целом, разработанная диссертантом программа исследования согласуется с принципами доказательной медицины, поскольку в основу работы положен объемный и, безусловно, репрезентативный фактический материал. Глава написана четким и доступным языком.

В последующей главе представлены собственные результаты обследования лабораторных животных. Автор приводит детальный анализ влияния действия агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов при пре- и посткондиционировании на кардиодинамические параметры, а также на показатели оксидативного стресса изолированного сердца крыс. На протяжении диссертационной работы автор подходит к решению той или иной проблемы методически выверено.

В главе «Общее заключение» сопоставлены и обобщены собственные результаты работы и данные литературы. Проводится критический анализ

проблем, освещенных в диссертации, которые логично подводят читателя к соответствующим выводам.

Выводы в количестве 6 логически вытекают из поставленных задач исследования и полностью отражают полученные результаты диссертационного исследования. Автореферат содержит все основные положения диссертации и выводы.

По материалам диссертации опубликовано 3 научных работы, из них 2 в журналах базы данных Scopus.

Резюмирую, что представленная диссертация является завершенным научным трудом. В ходе ознакомления с диссертацией обнаружены некоторые стилистические погрешности, которые не влияют на безусловно положительную научную ценность исследования.

Имеются замечания, не имеющие принципиальные значения: во введении диссертации и автореферате не следовало использовать необщепринятые сокращения и было бы оптимальнее, если в характеристике экспериментальных животных показать принцип деления на 9 групп.

Указанные замечания носят методологических характер и не оказывают значимого влияния на ценность полученных выводов.

**Заключение:**

Таким образом, по объему изучаемого материала, используемым современным методам исследования, научной новизне и практической значимости диссертация Говорушкиной Наталии Станиславовны на тему: «Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии» является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи – выявление особенности влияния введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии, имеющей важное

значение для патологической физиологии. Диссертация соответствует пункту 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденного приказом ректора ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.03.03 -Патологическая физиология.

Официальный оппонент:
доктор медицинских наук (14.03.03; 03.03.01),
профессор, заслуженный деятель науки РФ
заведующий кафедрой патологической физиологии
федерального государственного бюджетного военного
образовательного учреждения высшего образования
«Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова»
Министерства обороны Российской Федерации

Цыган Василий Николаевич

Подпись доктора медицинских наук, профессора В.Н. Цыгана заверяю:

Заместитель начальника отдела кадров
Военно-медицинской академии
майор П. Миличенко

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6; тел. 8(812) 329-71-36;

Email:vn-t@mail.ru; официальный сайт: www.vmeda.org