

О Т З Ы В

На диссертационную работу Даниелян Кристине Эдгаровны «Профилактическое и лечебное воздействие новых соединений при экспериментальном инсульте», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.04 – «Биохимия»

Небольшой экскурс в современное состояние проблемы достаточен для признания актуальности темы диссертационной работы. Инсульт является второй причиной смерти и третьей по значимости причиной инвалидности в мире. Представляет интерес эндотелиальное нацеливание рекомбинантной конструкции, объединяющей одноцепочечный вариабельный фрагмент антитела (scfv) PECAM-1 с проурокиназой, облегчающей профилактический тромболизис в легочной сосудистой сети [Bi-Sen Ding et al., 2006]. Средства для предотвращения распространения тромба и местного рецидива остаются неоптимальными, отчасти из-за ограниченной эффективности существующих тромболитиков [Bi-Sen Ding et al., 2006]. За последние годы было проведено несколько знаковых клинических испытаний, показавших успешные результаты лечения острого инсульта. Эндоваскулярное вмешательство (включая как механическую тромбэктомия, так и внутриартериальный тромболизис) возымели однозначные краткосрочные и долгосрочные клинические преимущества по сравнению с традиционным лечением инсульта. В свете этих крупных исследований АНА/ASA аккредитовала эндоваскулярную тромбэктомия в качестве золотого стандарта вмешательства в течение 6 часов после появления симптомов инсульта [Asad Ali et al., 2018]. Два недавних исследования DAWN и DEFUSE-3 показали положительный результат механической тромбэктомии с отсроченным или расширенным окном в течение 16-24 часов после начала инсульта у отдельных пациентов [Asad Ali et al., 2018]. Обнадеживающие результаты были получены в отношении эффективности закрытия открытого овального окна в профилактике повторного инсульта, в особенности у пациентов с фибрилляцией предсердий с сопутствующим пороком сердца [Asad Ali et al., 2018]. Значительное внимание привлекла защитная стратегия, получившая название «ишемическое посткондиционирование» (ИП). Обзор экспериментальных и клинических данных о нейропротекторных эффектах церебрального ИП привел к заключению: исследования ослабления структурных и функциональных дефицитов, наблюдаемых после ишемии-реперфузии, все больше фокусируются на терапевтическом потенциале ИП [Di Mi et al., 2017]. ИП заслуживает особого внимания, поскольку ишемия часто возникает внезапно и ее невозможно предсказать. Оно определяется как серия прерывистых прерываний кровотока (несколько повторных циклов кратковременной реперфузии и реокклюзии) в ранней фазе реперфузии, которая механически изменила бы гидродинамику реперфузии [Di Mi et al., 2017]. Исследования показали, что ИП защищает как от фокальной, так и глобальной церебральной ишемии/реперфузионного повреждения у крыс [Di Mi et al., 2017]. В

последние годы используются различные методы и модели ИП на животных. Результаты этих многочисленных исследований показали, что механизмы, лежащие в основе нейропротекторных эффектов ИП, могут включать снижение образования свободных радикалов и ингибирование перегрузки кальцием, а также высвобождение эндогенных активных веществ, изменение функции мембранных каналов и активация протеинкиназ [Di Mi et al., 2017]. В свою очередь, механизмы ишемического инсульта головного мозга включают эксайтотоксичность глутамата, токсичность кальция, свободные радикалы, оксид азота, воспалительные реакции, а также дисфункции эндоплазматического ретикулума и митохондрий [Zhao-Hui Guo et al., 2009]. Эти каскады травм взаимосвязаны сложным образом, поэтому трудно сравнивать их патогенное значение в моделях ишемии [Zhao-Hui Guo et al., 2009]. Исследование в клеточных и молекулярных путях стимулировало таковые потенциальной нейропротекции, главным образом в фармакологических областях, таких как антиэксайтотоксическое лечение, антагонизм кальциевых каналов, подходы для ингибирования окисления, воспаления, апоптоза и др [Zhao-Hui Guo et al., 2009]. Кроме того, другие защитные вмешательства, включая тромболизис, ангиогенез, регенерационную терапию и preconditioning и postconditioning ишемии также находятся в стадии изучения [Zhao-Hui Guo et al., 2009]. Несмотря на нынешние трудности, имеется довольно оптимистичный настрой в отношении будущего клинического применения нейропротекторов за счет оптимизации экспериментальных подходов и клинических испытаний [Zhao-Hui Guo et al., 2009]. Иными словами, несомненна актуальность диссертационной темы.

Кристине Эдгаровной получен целый ряд важных результатов. Все 30 заключений следует считать вполне обоснованными. Особый интерес представляют следующие 8 из них:

- (1) PRP-1 уменьшает ставроспорин-индуцированный апоптоз. Показано, что защитный эффект PRP-1 против апоптотической гибели клеток зависит как от времени, так и от дозы. Нейропротекция была более выражена после длительной предварительной обработки клеток PRP-1 до индукции апоптоза ставроспорин.
- (2) PRP-1 в фармакологической модели болезни Паркинсона (PD) индуцируется PDC увеличением числа TH (Tyrosine Hydroxylase) – положительных нейронов. Статистические сравнения подтвердили, что преобладающая ипсилатеральная потеря DA нейронов в черной субстанции pars compacta в ходе краткосрочного исследования в модели PDC уменьшилась под воздействием PRP-1. Было отмечено, что внутримозговая инъекция PRP-1 при низкой концентрации обеспечивает эффективную нейропротекцию при PD.
- (7) RBC/tPA (Twist Port Adaptor) обеспечивает эффективную и безопасную цереброваскулярную тромбопрофилактику, тогда как один tPA не является эффективным даже при 10-кратном повышении дозы.

- (10) Профилактика эритроцитов/ tPA не показывает обнаруживаемой токсичности и защищена от тромбоэмболии. Эритроцит/tPA, но не tPA, сохранял свою фибринолитическую активность в течение нескольких часов после инъекции мышам и крысам из-за длительной фармакокинетики и защиты от ингибиторов плазмы гликокаликсом – новой клинической парадигмы. Поскольку эндотелиальная дисфункция лежит в основе многих нозологий и патологических процессов, долгое время «виновником» этих нарушений считали непосредственное повреждение самих эндотелиоцитов. В последнее время появилось большое количество исследований, свидетельствующих, что истинной причиной является деструкция гликокаликса — тонкой молекулярной структуры из протеогликанов, гликопротеинов и гликозаминогликанов, расположенной на поверхности эндотелия [Sokologorskiy, 2018].
- (17) Исследования на мышах показали, что scFv-uPA (Single-Chain Variable Fragment-одноцепочечный переменный фрагмент Urokinase-Type Plasminogen Activator(s) (uPA,); Активатор(ы) плазминогена типа урокиназы), но не неконъюгированный uPA накапливается в головном мозге после внутрисосудистой инъекции.
- (18) Лизис сгустков, застрявших в сосудистой системе мозговой артерии без геморрагических осложнений, обеспечивают быструю и стабильную реперфузию мозга, облегчают посттромботический отек мозга.
- (19) Эффективная и безопасная тромбопрофилактика в мозговом артериальном кровообращении анти-PECAM (Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule - молекула адгезии тромбоцитов-эндотелиальных клеток 1) scFvUPA представляет собой прототип новой парадигмы профилактики рецидивирующего цереброваскулярного тромбоза.
- (20) Ингибирование XOR (Xanthine Oxidoreductas (XOR) стимулирует рост и развитие клеток человеческого мозга. Лечение низкой концентрацией аллопуринола гарантирует выживание клеток, уменьшает количество погибших клеток и способствует пролиферативным процессам

Отмеченное, в целом, позволяет заключить несомненность новизны и научно-практической ценности полученных диссертантом фундаментальных данных, представляющих большой интерес для клиники.

Принципиальных замечаний нет. В качестве пожелания предлагается дальнейшее развитие столь ценных исследований с привлечением других препаратов. В частности, Klotho и бактериального меланина. Как известно, Klotho, ген, подавляющий старение, кодирует белок, который потенциально действует как нейрозащитный фактор. Активация Klotho способствует нейропротекции лигустилида против ишемического повреждения головного мозга у мышей [Fang-Yi Long et al., 2017].

В заключение, в результате многочисленных, трудоемких и тщательных исследований получен достоверный и достаточно большой экспериментальный материал, использован высокий и многосторонний современный арсенал методических подходов,

средств и анализа. Использована исчерпывающая современная литература, данные ценны как в теоретическом, так и практическом отношении и, в большинстве случаев, представляют новизну. Достаточно отметить многочисленные публикации и апробацию материала в последние годы на известных международных форумах и в престижной профилированной зарубежной печати, чтобы была ясна значимость полученного экспериментального материала. Учитывая вышеизложенное, следует заключить, что диссертационная работа Даниелян Кристине Эдгаровны «Профилактическое и лечебное воздействие новых соединений при инсульте» соответствует требованиям ВАК Армении и более чем достойна быть представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.04 – «Биохимия».

Зав. лаб. физиологии комп. функций
ЦНС Института физиологии
им. Л.А. Орбели НАН РА,
д.б.н., профессор

Подпись проф. Дж.С. Саркисяна

ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь Института физиологии
им. Л.А. Орбели НАН РА, канд. биол. наук

06.12.2022



Дж.С. Саркисян

Л.А. Небогова