

ОТЗЫВ

официального оппонента д.м.н., профессора Р.С. Мирзояна на диссертацию Крайновой Юлии Сергеевны «Эффективность цинковой соли таурина при ишемическом поражении головного мозга (экспериментальное *in vivo* и *in vitro* исследование)», представленную в диссертационный совет Д 208.040.13, созданный на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы

Современные достижения неврологии и сосудистой хирургии позволили совершить технологическую революцию в области лечения целого ряда серьезных заболеваний, ранее считавшихся неизлечимыми, и изменить структуру смертности населения. Речь идет о хирургических и фармакологических методах восстановления мозгового кровотока. Однако, будучи методами выбора, положительная роль реперфузионной терапии имеет и некоторый негативный аспект - воздействие свободных радикалов. В сложный каскад патофизиологических процессов, формирующихся после ишемии и реканализации мозговых артерий, вовлекаются системы внутриклеточной энергопродукции, поддержания ионного гомеостаза, регуляции окислительно-восстановительных процессов, нарушаются ведущие механизмы внутри- и внеклеточной сигнализации, синаптической пластичности.

Актуальность поиска лекарственных средств, обладающих высокой активностью и безопасностью в борьбе с этим грозным осложнением, обусловлена отсутствием на сегодняшний день достаточно эффективных фармакологических средств. В серии работ, опубликованных в отечественной научной периодике в последнее время, были продемонстрированы антигипоксические, антиаритмические, антиишемическое и антиоксидантные эффекты магнийсодержащего соединения, содержащего в своем составе остаток 2-аминоэтансульфоновой

кислоты. Подобный фармакологический спектр позволяет предполагать потенциальную активность при ишемическом поражении головного мозга у цинксодержащей соли таурина, что обуславливает актуальность и своевременность диссертационного исследования Юлии Сергеевны Крайновой.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения, выводы и научные рекомендации, сформулированные диссертантом, обосновываются достаточным объемом экспериментальных животных, а также исследований в культурах клеток, позволившим получить репрезентативные данные, адекватными методами фармакологических, биохимических и биофизических исследований, корректно примененными методами медико-статистического анализа и обработки полученных экспериментальных результатов.

Выводы, сделанные автором, обоснованно и логично отвечают на вопросы, поднятые во введении и соответствуют цели и задачам диссертации. Основные научные положения диссертационного исследования отражены в 8 публикациях, среди которых 3 статьи опубликованы в центральных рецензируемых изданиях и журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Достоверность и научная новизна диссертационного исследования

Проведение всех опытов автор осуществляла на экспериментальных животных – белых нелинейных крысах обоего пола, крысах-самцах SpragueDawley и биологическом материале – смешанных нейроглиальных культурах гиппокампа новорожденных крыс SpragueDawley, полученных из сертифицированных питомников. Все эксперименты проведены в достаточном количестве, а объем исследований отвечает поставленным задачам и требованиям получения репрезентативных результатов. С целью определения достоверности полученных результатов автор проводил

статистическую обработку экспериментальных данных параметрическими (одномерный дисперсионный анализ, критерии Ньюмена-Кейлса и Даннета) и непараметрическими (точный критерий Фишера, критерий Уилкоксона) методами. Результаты изучения кальциевой проводимости NMDA рецептора обрабатывались автором диссертации с помощью пакета программ Origin 8.0.

Автором впервые установлено, что цинксодержащее соединение таурина ЛХТ-3-18 при внутривенном профилактическом введении ограничивает зону некроза и снижает явления неврологического дефицита у крыс с экспериментальным нарушением мозгового кровообращения, вызванным обратимой и необратимой окклюзией средней мозговой артерии. Вещество также снижает концентрацию глутаминовой кислоты в плазме интактных крыс и животных с острой ишемией головного мозга. Соединение с лабораторным шифром ЛХТ-3-18 повышает антирадикальную активность ткани головного мозга в зоне его повреждения на фоне значимого уменьшения окислительных процессов.

Во многом, определяющим научную новизну диссертационного исследования Ю.С. Крайновой являются данные иммуноцитохимического исследования: диссертант показала дозозависимую способность вещества повышать выживаемость ГАМК-ергических нейронов в условиях культивирования ишемии. Автором показано, что добавление ЛХТ-3-18 в среду культивирования подавляет первую фазу кальциевого ответа NMDA-содержащих нейронов, за счет чего и формируется нейропротекторный эффект. Кроме того, установлено также защитное действие цинковой соли таурина в отношении астроцитов.

Практическая значимость работы

Результаты диссертационного исследования Ю.С. Крайновой имеют как большое теоретическое, так и практическое значение. Они обосновывают ключевые элементы механизма нейропротекторного действия ЛХТ-3-18 при изучении как на уровне целостного организма, так и при воспроизведении в культуре клеток. Полученные в работе данные расширяют современные

представления о фармакологии цинксодержащих соединений сульфокислот.

Диссертантом показано, что препараты указанного химического класса могут, во-первых, представлять интерес для дальнейшего углубленного доклинического изучения и, далее могут быть рекомендованны для клинических испытаний с целью их последующего использования в клинической практике для профилактики и лечения ишемических поражений головного мозга. Практическую значимость исследованию придает и то обстоятельство, что оно выполнялось при частичной финансовой поддержке государственного контракта №14.N08.11.0183.

Внедрение результатов исследования

Результаты, полученные диссертантом при выполнении этого исследования, используются в работе научно-исследовательского семинара и учебной работе кафедры фармакологии и лабораторий Центра перспективных исследований инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва», кафедр Сеченовского Университета, лаборатории фармакологии АО «ВНЦ БАВ».

Оценка объема, структуры и содержания работы

В введении Ю.С. Крайнова обосновывает актуальность выбранной темы диссертационного исследования. Цель работы полностью соответствует теме диссертации, а сформулированные задачи нашли аргументированные ответы. План построения диссертационного проекта соответствует классической традиции, сама работа изложена на 131 странице текста, иллюстрирована 39 рисунками и 6 таблицами и состоит из введения, главы 1 (обзора литературы), главы 2 (материалы и методы исследования), глав 3-5 с описанием собственных результатов, заключения и выводов. Библиографический список содержит выходные данные 218 источников литературы, 202 из которых – зарубежные.

В обзоре литературы (глава1) Ю.С. Крайнова обобщает современные представления о ключевых механизмах повреждающего воздействия ишемии / реперфузии на ткани головного мозга. Автору удалось, по моему мнению,

удачно систематизировать имеющиеся в отечественной и зарубежной научной периодике данные о биологической роли и фармакологических свойствах таурина. Значительная часть литературного обзора посвящена изложению актуальных взглядов на особенности трансляции результатов экспериментальных исследований в клиническую практику и связанные с этим проблемы. В целом, глава производит положительное впечатление и предваряет изложение результатов собственных исследований.

Во второй главе – материалы и методы исследования – диссертант делает исчерпывающее описание исследуемых в работе соединений и референтного лекарственного средства, используемых при постановке экспериментов. В данной главе Ю.С. Крайнова подробно описывает лабораторно-методические приемы, применение которых позволило получить ценные результаты. Несомненными достоинствами данного фрагмента работы является подробное обоснование доз исследуемого вещества, протоколов лабораторных исследований, а также методов исследования с использованием культур клеток головного мозга животных. Диссертационную работу Ю.С. Крайновой выгодно отличает то, что ее экспериментальный фрагмент выполнен на высоком методическом уровне с использованием современного оборудования.

Третья глава посвящена исследованию влияния цинксодержащего соединения таурина на размеры зоны некроза головного мозга крыс с ишемическим поражением и поведенческие реакции животных, а также на плазменный уровень глутаминовой кислоты и свободнорадикальную активность в головном мозгу крыс при его фокальной ишемии. Автор показывает, что соединение обладает способностью уменьшать размер зоны некроза и снижать явления неврологического дефицита, а механизм нейропротекторного действия ЛХТ-3-18 при его внутривенном введении в терапевтических дозах обусловлен в том числе и способностью вещества снижать уровень медиатора нейротоксичности в крови, подавлять перекисное окисление липидов и активировать антиоксидантный потенциал

тканей как в зоне повреждения, так и в удаленных областях мозга.

Четвертая глава суммирует результаты изучения влияния ЛХТ-3-18 на парвальбумин-содержащие глутаматергические нейроны и ГАМК-ергические нейроны в условиях повреждающего воздействия глюкозо-кислородной депривации. Автором убедительно доказано, что индукция депривации на фоне 100 мкМ – 1 мМ ЛХТ-3-18 приводит к полному подавлению первой фазы увеличения входящего кальциевого тока и существенному снижению второй фазы. Помимо этого, для ЛХТ-3-18 установлена также способность повышать выживаемость клеток астроцитарной глии.

В главе 5 (заключение) Ю.С. Крайнова с привлечением отечественных и зарубежных литературных данных систематизирует полученные результаты, намечает основные направления дальнейшей разработки темы диссертационного исследования, формирует практические рекомендации.

Автореферат и публикации Ю.С. Крайновой полностью соответствуют диссертации.

Общие замечания по диссертационной работе

В целом диссертационная работа производит хорошее впечатление. Принципиальных замечаний по работе нет. Вместе с тем, при ознакомлении с диссертацией возник ряд вопросов, на которые хотелось бы получить ответы:

1) Скажите, пожалуйста, с воздействием на какие структурные компоненты NMDA-рецептора связан ингибиторный эффект исследуемого Вами вещества ЛХТ-318?

2) Можно ли утверждать, что весь спектр фармакологических эффектов ЛХТ-318 при локальной ишемии головного мозга обусловлен кальций-блокирующим действием соединения?


ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Крайновой Юлии Сергеевны на тему: «Эффективность цинковой соли таурина при ишемическом поражении головного мозга (экспериментальное *in vivo* и *in vitro* исследование)»

является самостоятельным, законченным научным квалифицированным исследованием, содержащим новое решение актуальной задачи фармакологии, клинической фармакологии – обоснования эффектов и механизмов фармакологического действия потенциального лекарственного средства для профилактики и лечения ишемического поражения головного мозга.

По своей актуальности, научной новизне, практической значимости, объему выполненных исследований диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Ю.С. Крайнова, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией
фармакологии цереброваскулярных расстройств
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Научно-исследовательский
институт фармакологии имени В.В. Закусова»



Рубен Симонович Мирзоян

Подпись Р.С. Мирзояна заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова»,
к.б.н.



В. А. Крайнева

Почтовый адрес: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8;
Телефон: (495) 601-24-19.
Электронная почта: cerebropharm@mail.ru



«03» марта 2020 г.