

ОТЗЫВ

официального оппонента Архиповой Эржены Владимировны на диссертационную работу Хлёсткиной Марии Сергеевны «Особенности нейропротективного действия цитиколина при экспериментальной ишемии головного мозга», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология в Диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук.

Актуальность темы. Нейропротекция является одной из наиболее перспективных стратегий в лечении больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения, основной задачей которой является повышение устойчивости нервной ткани к недостатку кислорода и метаболических субстратов. Механизм действия нейропротективных средств направлен на предотвращение, прерывание или замедление последовательности ишемических биохимических и молекулярных событий, которые приводят к необратимому повреждению головного мозга. Однако большинство потенциальных нейропротекторов с высокой эффективностью в экспериментальных исследованиях, при трансляции в клиническую практику до настоящего времени не показали существенных преимуществ. Частично это может быть связано с использованием неадекватных экспериментальных моделей ишемии головного мозга. По данным литературы, наиболее перспективными методами, обеспечивающими нейропротекцию при острой ишемии, могут быть гипотермия, сульфат магния, цитиколин и альбумин. При этом, среди всех перечисленных препаратов и методов только цитиколин может обеспечить как адекватную защиту головного мозга от ишемии, так и усилить процессы восстановления, не оказывая при этом значимых побочных эффектов. Несмотря на все положительные свойства этого препарата, остается ряд нерешенных вопросов; в частности, практически не изучены механизмы действия цитиколина, так как его влияние только на биосинтез фосфолипидов не может объяснить одновременное воздействие на различные этапы ишемического каскада,

восстановление после инсульта, нейропластичность и когнитивные функции. Химическая структура цитиколина, данные о его фармакокинетике и фармакологических эффектах позволяют предположить наличие рецепторных механизмов действия исследуемого препарата. Таким образом, высокая медико-социальная значимость проблемы терапии ишемических повреждений ЦНС требует продолжения фармакологических исследований цитиколина, в том числе с использованием релевантных экспериментальных моделей ишемии, и предопределяет высокую актуальность темы представленной диссертационной работы.

Научная новизна. В диссертации Хлёсткиной М.С. представлены две основные модели ишемии головного мозга. Модель фокальной транзиторной 60 минутной ишемии головного мозга у крыс является оригинальной методикой, имитирующей развитие ишемического инсульта, связанного с нарушением кровообращения по одному из магистральных сосудов головного мозга, на которую получен патент на изобретение. Модель отличается высокой воспроизводимостью ишемии головного мозга и относительной простотой хирургических манипуляций, требующая, тем не менее, определенных навыков. С использованием данной модели в диссертации проведено сравнительное исследование особенностей нейропротективного действия цитиколина, в котором показано статистически значимое преимущество профилактического введения данного препарата на различные проявления ишемии (неврологический статус, концентрация нейроспецифических белков в плазме крови, гистологические нарушения) в сравнении с его ежедневным введением после ишемии. Вторая представленная модель – модификация методики глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей. Основным недостатком существующих аналогичных моделей обычно является сложность объективной оценки ишемического повреждения мозга. Автор впервые для объективизации этой методики применила одномоментную регистрацию уровня постоянного потенциала головного мозга и

электроэнцефалограммы, путем определения скорости альтерации спонтанной биоэлектрической активности (максимальная депрессия суммарной амплитуды ЭЭГ и негативизация УПП), а также времени появления и окончания гаспинга по дыхательным артефактам. При этом была установлена прямая связь между выраженностью электрофизиологическими нарушениями и продолжительностью гаспинга у мышей. С использованием данной модели установлено, что нейропротективный эффект цитиколина реализуется при его введении не ранее чем за 60 минут до моделирования глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей, что согласуется с данными литературы о фармакокинетике цитиколина. Также изучено влияние селективного антагониста пиrimидиновых P2Y₆ рецепторов MRS2578 на продолжительность гаспинга и динамику спонтанной биоэлектрической активности головного мозга у мышей при развитии глобальной ишемии мозга. Впервые установлено, что введение MRS2578 за 30 минут до введения цитиколина предупреждает защитное действие последнего, что предполагает возможную роль P2Y₆ рецепторов в механизме действия цитиколина.

Практическая значимость. Полученные в диссертационном исследовании результаты по выявлению особенностей нейропротективного действия цитиколина позволяют рекомендовать использование этого препарата в клинической практике в условиях прогнозируемой ишемии, например, при проведении хирургических вмешательств. Разработанные автором модель транзиторной фокальной ишемии головного мозга и методы электрофизиологической верификации функциональных нарушений при моделировании глобальной ишемии головного мозга у экспериментальных животных могут использоваться для изучения фармакологических эффектов лекарственных препаратов с потенциальными нейропротективными свойствами. Обосновано продолжение целенаправленного поиска рецепторных мишеней нейропротективной активности цитиколина. Результаты исследования применяются в учебном процессе на кафедре

фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова», в работе ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, на кафедре нейрохирургии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России и в лечебной работе ФГБУ «Федеральный центр нейрохирургии» Министерства здравоохранения РФ (г. Тюмень).

Структура диссертации. Структура диссертации соответствует традиционной схеме изложения и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», глав собственных исследований, содержит заключение, выводы и список литературы. Работа изложена на 122 страницах, включает 34 рисунка и 8 таблиц; список литературы состоит из 224 источников, 202 из которых на иностранных языках.

Во введении автором обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, указаны научная новизна и практическая значимость выполненных исследований.

В обзоре литературы представлены общие представления о патогенезе ишемии нервной ткани, а также приведена достаточно полная информация об экспериментальных и клинических исследованиях цитиколина при ишемическом повреждении головного мозга, описана функциональная роль пириимидинов и их рецепторные механизмы действия.

Во второй главе автором подробно описаны используемые экспериментальные модели ишемии головного мозга и представлены современные и достаточно информативные неврологические, биохимические, электрофизиологические, гистологические и статистические методы, позволяющие решить поставленные в исследовании задачи.

В 3 главе соискателем представлены оригинальные исследования особенностей нейропротективного действия цитиколина при профилактическом и лечебном введении на модели транзиторной фокальной ишемии головного мозга у крыс. Автором показано, что при введении

цитиколина в течение первых 5 суток после ишемии практически не отмечается улучшение неврологических функций, продолжительности жизни животных, биохимических показателей (нейроспецифических белков в плазме крови) и уменьшения органического повреждения нервной ткани в сравнении с контрольной группой. Наиболее существенное защитное действие цитиколина наблюдалось при его введении за 60 минут до моделирования ишемии головного мозга. Для сравнительной оценки эффективности профилактического и лечебного введения цитиколина использовался метод анализа показателей выживания Каплана-Майера.

В четвертой главе соискателем с использованием нейрофизиологического мониторинга были объективизированы методы оценки выраженности глобальной странгуляционной ишемии головного мозга и представлены данные, подтверждающие защитное действие цитиколина на модели глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей. В частности, автором было установлено, что предварительное введение цитиколина за 60 минут до моделирования ишемии сопровождается удлинением общей продолжительности жизни мышей и замедлением развития полной ишемической деполяризации и альтерации ЭЭГ в сравнении с введением этого препарата за 30 минут до ишемии. Для подтверждения возможного рецепторного механизма нейропротективного действия цитиколина соискателем представлены результаты серии экспериментов с предварительным введением селективного неконкурентного антагониста пиридиновых P2Y6 рецепторов MRS2578. Установлено, что введение MRS2578 не влияет на процессы ишемической деполяризации и не изменяет продолжительность жизни экспериментальных животных на модели глобальной ишемии головного мозга, но полностью предупреждает защитное профилактическое действие цитиколина.

Глава «Заключение» посвящена описанию и обсуждению наиболее важных результатов диссертации, на основании которых в последующем сформулированы выводы и практические рекомендации. В общем

заключении автор кратко резюмирует полученные результаты с учетом объема проведенных исследований и данных литературы.

Выводы диссертационного исследования обоснованы и соответствуют поставленным задачам. О возможности применения результатов исследования в экспериментальной и клинической фармакологии указывают практические рекомендации.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов. Диссертационная работа Хлесткиной М.С. содержит достаточное количество экспериментального материала. Научное исследование проводилось автором с использованием современных адекватных методов, которые позволили в полном объеме достигнуть выполнение поставленной цели. Глубокий анализ литературных данных и использование высокоинформационных методических приемов позволили диссидентанту получить результаты, обладающие теоретической и практической значимостью. Автореферат полностью соответствует рукописи диссертации. Материалы диссертационного исследования докладывались и обсуждались на научно-практических конференциях различного уровня. Основные положения и выводы опубликованы в печати. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, из которых 4 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Получен патент на изобретение. Все это позволяет заключить, что сформулированные в диссертации научные положения и выводы являются вполне обоснованными.

В целом, диссертация производит положительное впечатление. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы не имею. Но в процессе ознакомления с диссертацией определился ряд вопросов и пожеланий:

1. Исследовались ли физиологические эффекты цитиколина в норме, в том числе влияние этого препарата на биоэлектрическую активность головного мозга, сердечно-сосудистую систему, биохимические показатели крови?

2. Прослеживается некоторая избыточность применения неврологических шкал для оценки выраженности ишемии головного мозга. Возможно, достаточно было бы использование только одной шкалы, например, общепринятой шкалы Бедерсона?

3. В главе 3.2, посвященной описанию результатов гистологических исследований при моделировании ишемии головного мозга у крыс, желательно было бы привести микрофотографии патологических изменений не только в соматосенсорном отделе коры, но и в гиппокампе и подкорковых структурах.

4. В тексте диссертации не имеется сведений, чем обусловлен выбор 5 дневного периода введения цитиколина в постишемическом периоде? Возможно, было бы более рационально введение исследуемого препарата более длительно – в течение 2-4 недель после ишемии?

5. Какой из электрофизиологических методов, по мнению автора, более информативен для объективизации ишемии головного мозга: регистрация уровня постоянного потенциала или электроэнцефалограммы? В результатах, описанных в главе 5, эти методы дают сходный результат, поэтому возникает вопрос: чем обусловлено одновременное их использование?

Следует отметить, что ни одно из высказанных замечаний не носит принципиального характера и не снижает степени научной новизны, практической значимости диссертационного исследования. Данная работа вносит существенный вклад в развитие фармакологии.

Заключение.

Диссертационное исследование Хлесткиной Марии Сергеевны является законченным самостоятельно выполненным научно-квалификационным трудом, в котором, на основании выполненных автором исследований, решена научная проблема по выявлению особенностей нейропротективного действия цитиколина при профилактическом и лечебном введении и

выявлены возможные рецепторные мишени нейропротективного действия этого препарата, что имеет важное значение как для теоретической, так и практической медицины.

По актуальности, объему, научно-методическому уровню исследований, новизне полученных результатов, теоретической и практической значимости данная работа соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Старший преподаватель кафедры терапии
медицинского института ФГБОУ ВО
«Бурятский государственный университет
имени Доржи Банзарова» Министерства науки
и высшего образования РФ
к.м.н.


Эржена Владимировна Архипова

(шифр специальности: 14.03.06 –
фармакология, клиническая фармакология)

670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская 36а
Тел: 8(3012)44-82-55
e-mail: arkhipova15@mail.ru
<http://bsu.ru>

06.11.2019



Общий отдел

Подпись подпись Архиповой Е.В.

бер. документовед Зоя заверяю Л.С.

"06" 11 2019 г.