

ОТЗЫВ

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

Актуальность. Одним из современных подходов к профилактике и лечению гипоксических и ишемических повреждений ЦНС является применение лекарственных средств, воздействующих на ключевые рецепторные механизмы, участвующие в регуляции физиологических процессов в нервной ткани. Механизмы действия их, как правило, связаны со снижением функциональной и метаболической активности нервной ткани, ограничением глутаматной эксайтотоксичности и ишемической деполяризации, уменьшением нарушений энергетического и ионного гомеостаза, что закономерно приводит к расширению границ терапевтического окна при ишемии. С этой целью представляет интерес использование агонистов пуриновых и пиримидиновых рецепторов, для которых в ряде экспериментальных и клинических исследований показан высокий нейропротективный потенциал. Одним из широко применяемых в настоящее время лекарственным препаратом для лечения последствий ишемического и травматического повреждения головного мозга является цитиколин, представляющий собой пиримидиновый мононуклеотид, аналог эндогенного цитидин-5-дифосфохолина, участвующего в реакциях синтеза фосфолипидов клеточных мембран. Цитиколин действует на целый ряд звеньев ишемического каскада, а также обладает нейрорепаративным действием. Однако эффективность цитиколина в остром периоде ишемического инсульта не нашла однозначного подтверждения в ряде

крупных рандомизированных исследований, и его механизм действия остается не изученным. С этих позиций, проведенное автором исследование, посвященное изучению особенностей нейропротективного действия цитиколина при фокальной и глобальной ишемии головного мозга в эксперименте, а также исследование возможных рецепторных механизмов действия данного препарата является актуальным.

Научная новизна. В проведенном диссертационном исследовании автором установлено, что профилактическое введение цитиколина экспериментальным животным в эффективной дозе 2000 мг/кг за 60 минут до моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс, по данным неврологического тестирования, концентрации нейроспецифических белков NSE и S100b в плазме крови и изучения гистологических срезов, сопровождается меньшими нарушениями в сравнении с ежедневным введением этого препарата после ишемии. При этом, существенных преимуществ введения цитиколина в первые 5 суток после ишемии головного мозга в сравнении с группой контроля выявлено не было. С использованием методов электрофизиологической оценки глобальной ишемии головного мозга у мышей, автором показано, что введение цитиколина за 60 минут до ишемии сопровождается удлинением продолжительности гаспинга и времени развития максимальных электрофизиологических нарушений. Введение цитиколина за 30 минут до воспроизведения ишемии не сопровождается значимыми проявлениями его нейропротективного эффекта. На модели глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей впервые установлено, что введение селективного антагониста пиримидиновых рецепторов MRS2578 блокирует защитное действие цитиколина, что предполагает роль P2Y6 рецепторов в реализации нейропротективных свойств исследуемого препарата. Указанные особенности в нейропротективном действии цитиколина имеют важное значение для клинической медицины.

Практическая значимость работы. Проведенное Хлёткиной М.С. исследование имеет важное значение для фармакологии, клинической фармакологии. В диссертации по-новому оценено значение цитиколина как перспективного профилактического препарата при ишемии головного мозга и обосновано продолжение целенаправленного поиска рецепторных мишеней нейропротективной активности данного препарата. Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре нейрохирургии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России, 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 и внедрены в лечебную работу ФГБУ «Федеральный центр нейрохирургии» Министерства здравоохранения РФ (г. Тюмень). Получен патент на изобретение «Способ воспроизведения фокальной ишемии головного мозга» RU2639787C1. Разработанная автором модель транзиторной фокальной ишемии головного мозга может использоваться для изучения фармакологических эффектов лекарственных препаратов с потенциальными нейропротективными свойствами.

Структура и оформление диссертации. Диссертация написана по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, глав собственных исследований, краткого заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы (224 источника) и списка сокращений. Работа изложена на 122 страницах и иллюстрирована 8 таблицами и 34 рисунками.

Во введении автором определена актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цель, задачи исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая ценность работы.

В первой главе автор представила современные данные о патогенезе ишемического повреждения головного мозга, нейропротективной активности

и потенциальных механизмах действия цитиколина. Отдельный раздел посвящен физиологической роли и значимости пиримидиновых рецепторов в ЦНС. Диссертантом использованы основные материалы из доступных источников: публикаций отечественных и зарубежных авторов, преимущественно за последние 10 лет.

Во второй главе приведены основные материалы и методы, используемые автором при проведении исследований. Достаточно подробно описаны экспериментальные модели ишемии головного мозга у лабораторных крыс и мышей, методы неврологической, биохимической, электрофизиологической и морфометрической оценки выраженности ишемического повреждения. Полученные данные обработаны с применением адекватных методов математической статистики, что позволяет сделать заключение о достоверности результатов, полученных автором.

Третья и четвертая главы диссертации посвящены результатам собственных исследований. В третьей главе Хлёткина М.С. представила результаты фармакологической оценки профилактического и лечебного действия цитиколина при моделировании транзиторной фокальной ишемии головного мозга у крыс. С использованием общепринятых неврологических шкал оценки степени ишемии головного мозга, а также гистологического исследования срезов головного мозга и изучения биохимических маркеров ишемии головного мозга (нейроспецифических белков NSE и S100b) автором убедительно доказан статистически значимый нейропротективный эффект цитиколина при его введении за 60 минут до ишемии головного мозга. Лечебное назначение цитиколина в раннем постишемическом периоде (первые 5 суток) не сопровождалось существенным улучшением функций, снижением летальности, уменьшением повреждения нервной ткани и значимыми изменениями в концентрации нейроспецифических белков в плазме крови животных. Эти данные представляют интерес для практической медицины и позволяют использовать цитиколин для предупреждения

ишемического повреждения ЦНС в случаях прогнозируемой ишемии мозга, например при проведении хирургических вмешательств.

В четвертой главе представлены результаты, посвященные изучению механизмов нейропротективного действия цитиколина при моделировании глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей. В данном разделе диссертации автором показано, что нейропротективный эффект цитиколина проявляется при его введении за 60 минут до моделирования глобальной странгуляционной ишемии. Введение исследуемого препарата за 30 минут до ишемии головного мозга не оказывало существенного защитного действия на продолжительность жизни мышей и изменения электрофизиологических параметров в сравнении с контрольной группой. Эти данные согласуются с данными литературы о времени накопления максимальной концентрации основного метаболита цитиколина - уридина в тканях головного мозга. Установлено, что введение животным антагониста P2Y₆ рецепторов MRS2578 полностью предупреждает защитное действие цитиколина, а это предполагает роль P2Y₆ рецепторов как потенциальную мишень ведущего фармакологического эффекта данного препарата.

В итоговом заключении кратко обобщены основные результаты исследований. Выводы и практические рекомендации органично вытекают из проведенной работы. Достаточный объем экспериментального материала позволяет утверждать о достоверности результатов исследования.

Изложение материала в диссертации и автореферате совпадает и отражает результаты исследований, полученные автором. Работа написана хорошим языком, правильно оформлена. Структуру работы отличают логичность и внутреннее единство.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов. Результаты исследований базируются на достаточном фактическом материале. Эксперименты выполнены с использованием комплекса современных фармакологических, биохимических, физиологических, морфологических и статистических

методов исследований, что позволяет сделать заключение о достоверности полученных автором результатов. Заключение и выводы логично вытекают из результатов работы и в достаточной степени аргументированы.

Апробация настоящей работы осуществлена в виде докладов на научных конференциях различного уровня, в которых отражены основные положения диссертационной работы, по материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 4 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ. Печатные работы автора полностью отражают основные положения диссертационной работы и ее результаты.

Вопросы и замечания

При общей положительной оценке диссертационной работы Хлёткиной М.С. имеются следующие замечания и пожелания:

1. Какова частота ишемических повреждений головного мозга при хирургических вмешательствах, и какие средства используются для их предупреждения?

2. Чем обусловлено использование различных методов оценки выраженности ишемии головного мозга при моделировании транзиторной фокальной ишемии мозга у крыс и глобальной странгуляционной - у мышей?

3. Проводилось ли исследование нейропротективного эффекта цитиколина при введении его животным за 2 ч., 12 ч., 24 ч. до моделирования ишемии мозга?

4. В главе «Материалы и методы» не дано обоснование выбора селективного антагониста (MRS2578) пиримидиновых рецепторов при проведении исследований механизма действия цитиколина, почему?

5. В каком направлении планируются дальнейшие исследования?

Указанные замечания и пожелания не умаляют теоретической и практической значимости данной диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Хлёткиной Марии Сергеевны «Особенности нейропротективного действия цитиколина при экспериментальной ишемии головного мозга» является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи в области фармакологии, клинической фармакологии по установлению особенностей и механизма нейропротективного действия цитиколина в эксперименте.

Диссертация по актуальности, объему, научно-методическому уровню, научной новизне и практической значимости соответствует критериям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842, предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор – Хлёткина Мария Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Профессор кафедры геронтологии, гериатрии и клинической фармакологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования - филиала ФГБОУ ДПО "Российская государственная медицинская академия непрерывного профессионального образования" МЗ РФ

д.м.н., профессор

Верлан

Верлан Надежда Вадимовна

(специальность 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология)

Подпись *Верлан Н.В.*

ЗАВЕРЯЮ

24. отдела кадров

664049, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100
телефон: 8(3952) 465326
e-mail: nadverlan@mail.ru
http://igmapo.ru

05.11.2019