

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский
институт лекарственных и ароматических
растений»

член-корреспондент РАН,
доктор сельскохозяйственных наук
И.И. Сидельников

«~~06~~» ноября 2019 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации 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 исследования. Разработка методов фармакологической коррекции нарушений, развивающихся при ишемии и гипоксии головного мозга, представляет собой одну из актуальных проблем фармакологии. Актуальность проведенных соискателем исследований обусловлена тяжелой инвалидизацией и высокой летальностью пациентов как при первичных нарушениях мозгового кровообращения в результате инсультов, так и при повреждениях нервной системы, наблюдаемых после кардиохирургических и нейрохирургических вмешательств. В настоящее время для предупреждения подобных нарушений активно разрабатываются и внедряются в клиническую практику препараты, действующие не только на сосудистый компонент, но и на биохимические каскады ишемического повреждения головного мозга. В этом плане, перспективным препаратом является цитиколин. Механизм защитного действия этого препарата остается малоизученным. Показан высокий нейрорепаративный потенциал цитиколина при его назначении, который связан с влиянием на синтез фосфолипидов и участием холина в нейрохимических

процессах. Диссертационное исследование Хлёткиной М.С. посвящено изучению особенностей нейропротективного действия цитиколина при фокальной и глобальной ишемии головного мозга в эксперименте при его введении превентивно – до ишемии и в постишемическом периоде, а также выявлению потенциальных механизмов действия данного препарата. Таким образом, данное исследование посвящено актуальной проблеме – разработке новых фармакотерапевтических технологий, соответствующих основным направлениям Перечня критических технологий РФ.

Научная новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В работе М.С. Хлёткиной проведена оценка профилактического и лечебного введения цитиколина. Впервые установлено, что его превентивное введение животным за 60 минут до ишемии, в сравнение с ежедневным введением после ишемии, приводит к меньшим неврологическим нарушениям, ограничивает повышение нейроспецифических белков NSE и S100b в плазме крови и предупреждает развитие грубых органических изменений в головном мозге у крыс. Аналогичные результаты, подтверждающие значительный профилактический нейропротективный потенциал исследуемого препарата, получены при моделировании глобальной ишемии головного мозга у мышей. В частности, с использованием разработанной автором методики электрофизиологической объективизации повреждения нервной ткани установлено, что введение цитиколина в экспериментально-терапевтической дозе за 60 минут до моделирования глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у мышей сопровождается удлинением продолжительности гаспинга и времени развития максимальных электрофизиологических нарушений. Хлёткиной М.С. впервые установлено, что нейропротективный эффект цитиколина при моделировании глобальной ишемии головного мозга у мышей блокируется селективным антагонистом пиримидиновых рецепторов MRS2578, что предполагает роль пиримидиновых P2Y6 рецепторов как потенциальную мишень ведущего фармакологического эффекта исследуемого препарата.

Установленные особенности действия цитиколина при ишемии головного мозга являются важными для клинической медицины.

Значимость полученных соискателем результатов для науки и практической деятельности. Теоретическая значимость работы Хлёткиной М.С. связана с расширением современных представлений о механизмах нейропротективного действия цитиколина и обоснованием его применения для предупреждения ишемических повреждений головного мозга в клинической практике.

Рекомендации по использованию результатов. Разработанная автором модель транзиторной фокальной ишемии головного мозга и методы функциональной оценки глобальной ишемии нервной ткани в эксперименте могут быть использованы для изучения фармакологических эффектов лекарственных препаратов с нейропротективными свойствами. Рекомендовано использование цитиколина с профилактической целью в клинической практике для предупреждения вторичных ишемических нарушений в послеоперационном периоде. Целесообразно использование материала, представленного в диссертации, в практической медицине, а также в образовательных и исследовательских целях, в том числе при чтении курсов лекций по фармакологии в учебных заведениях биологического и медицинского профиля, а также учитывать при проведении научно-исследовательской работы.

Структура и содержание работы. Диссертация логично структурирована, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов (глава 2), результатов экспериментальных исследований (главы 3 и 4), общего заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 122 страницах печатного текста, иллюстрирована 34 рисунками и 8 таблицами. Список литературы включает 22 русскоязычных и 202 иностранных источников. Материал диссертации изложен грамотным языком. По объему соотношение разделов в диссертации сбалансировано.

Установленные особенности действия цитиколина при ишемии головного мозга являются важными для клинической медицины.

Значимость полученных соискателем результатов для науки и практической деятельности. Теоретическая значимость работы Хлёткиной М.С. связана с расширением современных представлений о механизмах нейропротективного действия цитиколина и обоснованием его применения для предупреждения ишемических повреждений головного мозга в клинической практике.

Рекомендации по использованию результатов. Разработанная автором модель транзиторной фокальной ишемии головного мозга и методы функциональной оценки глобальной ишемии нервной ткани в эксперименте могут быть использованы для изучения фармакологических эффектов лекарственных препаратов с нейропротективными свойствами. Рекомендовано использование цитиколина с профилактической целью в клинической практике для предупреждения вторичных ишемических нарушений в послеоперационном периоде. Целесообразно использование материала, представленного в диссертации, в практической медицине, а также в образовательных и исследовательских целях, в том числе при чтении курсов лекций по фармакологии в учебных заведениях биологического и медицинского профиля, а также учитывать при проведении научно-исследовательской работы.

Структура и содержание работы. Диссертация логично структурирована, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов (глава 2), результатов экспериментальных исследований (главы 3 и 4), общего заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 122 страницах печатного текста, иллюстрирована 34 рисунками и 8 таблицами. Список литературы включает 22 русскоязычных и 202 иностранных источников. Материал диссертации изложен грамотным языком. По объему соотношение разделов в диссертации сбалансировано.

Во введении приводятся официальные статистические сведения о распространенности инсульта, влиянии ишемических нарушений головного мозга на потерю трудоспособности и смертность населения РФ, а также описываются объективные проблемы интраоперационных ишемических повреждений нервной системы. Представлены общие данные о цитиколине и его применении в клинической практике, а также приводятся доводы о недостаточном исследовании механизмов нейропротективного действия данного препарата, обосновывается исследование роли пиримидиновых рецепторов как потенциальных мишеней его основного фармакологического эффекта. Исходя из этого, формируются цель и задачи работы, краткое описание методологии и личного вклада автора, степени апробации и внедрения.

Обзор литературы посвящен изложению теоретических основ и предпосылок диссертационного исследования. Приведены современные сведения о биохимических и патофизиологических нарушениях при развитии ишемии нервной ткани. Представлены некоторые аспекты фармакокинетики и фармакодинамики цитиколина. Отдельное внимание уделено физиологической роли и терапевтической значимости пиримидиновых рецепторов в ЦНС, а также данным литературы, посвященным исследованиям нейропротективного действия цитиколина как в эксперименте, так и в клинической практике. При чтении обзора литературы становится очевидным, что автор владеет обширными знаниями по избранной тематике. Обзор литературы производит хорошее впечатление, ознакомление с ним позволяет полностью сориентироваться в проблеме и уяснить необходимость сравнительной оценки нейропротективного профилактического и постишемического лечебного введения цитиколина, а также исследования возможной роли пиримидиновых рецепторов как мишеней действия этого препарата.

Из замечаний к данному разделу диссертационной работы можно отметить относительно малое количество ссылок на отечественные источники в сравнении с объемом зарубежной литературы.

Глава Материалы и методы содержит подробное описание комплекса экспериментальных подходов, включающего описание используемого препарата, моделей ишемии головного мозга (модель фокальной транзиторной ишемии у крыс, модель глобальной странгуляционной ишемии у мышей), хирургических и электрофизиологических методик (имплантация электродов, регистрация спонтанной биоэлектрической активности), биохимических исследований (оценка плазменной концентрации нейроспецифических белков NSE и S100b), гистологических процедур и неврологической оценки выраженности ишемии головного мозга. Недостаточно информации об обосновании выбора той или иной методики оценки ишемии мозга. Кроме того, следует учитывать, что окраска гематоксилин-эозином, как и большинство гистологических окрасок не считается достоверным способом визуализации именно нейронов, поскольку окрашивает и глию. В целом, следует подчеркнуть, что богатый арсенал достаточно трудоемких методов моделирования и оценки повреждения головного мозга производит хорошее впечатление.

Глава 3 посвящена сравнительной оценке нейропротективного действия цитиколина при профилактическом и лечебном введении в условиях транзиторной фокальной ишемии головного мозга у крыс. В данном разделе работы автором, с использованием неврологических шкал, гистологического метода и оценки динамики изменения концентрации нейроспецифических белков NSE и S100b в плазме крови, убедительно показано, что введение цитиколина при фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс в раннем постишемическом периоде не сопровождается значимыми изменениями неврологического статуса, концентрации нейроспецифических белков, летальности и выраженности гистопатологических нарушений в сравнении с группой контроля, более эффективным было введение животным цитиколина с профилактической целью.

В 4 главе Хлёткина М.С. провела сравнительное исследование нейропротективного действия цитиколина при введении в разные временные

интервалы до моделирования глобальной странгуляционной ишемии головного мозга у белых мышей, а также изучила потенциальную роль P2Y₆ рецепторов в механизмах нейропротективного действия цитиколина. Было установлено, что введение цитиколина за 30 минут до ишемии не оказывает существенного защитного действия на продолжительность жизни мышей и изменения электрофизиологических параметров в сравнении с контрольной группой. Введение цитиколина за 60 минут до моделирования глобальной странгуляционной ишемии сопровождалось удлинением общей продолжительности жизни мышей и замедлением развития полной ишемической деполяризации и альтерации ЭЭГ. Выявлено, что селективный антагонист P2Y₆ рецепторов MRS2578 предупреждает нейропротективное действие цитиколина и не влияет на процессы ишемической деполяризации и продолжительность жизни мышей, что предполагает роль пиримидиновых рецепторов как потенциальных мишеней ведущего фармакологического эффекта цитиколина. Необходимо отметить дублирование в некоторых случаях данных в описании результатов в таблицах и на графиках. Не в полной мере обоснован выбор антагониста именно P2Y₆ рецепторов для подтверждения рецепторных механизмов нейропротективного действия цитиколина, хотя эти данные имеются в обзоре литературы. В будущем представляет большой интерес исследование с привлечением большего числа антагонистов P2 рецепторов, в частности с выявлением возможной роли P2Y₂ и P2Y₄ рецепторов, которые также селективны к пиримидинам.

Результаты исследований хорошо проиллюстрированы графиками, микрофотографиями и таблицами. Анализ и обсуждение результатов осуществляется непосредственно по ходу их изложения с привлечением фактов, описанных в современной литературе. Завершается основной текст диссертации общим заключением, в краткой форме резюмирующим все содержание работы. После общего заключения следуют выводы и практические рекомендации, намечающие прикладные перспективы применения полученных результатов. Выводы сформулированы ясно, обоснованы полученными

данными, достоверность которых не вызывает сомнений. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства науки и высшего образования РФ. Анализ содержания автореферата показывает, что он соответствует содержанию диссертации.

В целом, оценивая положительно данную работу, наряду с предложениями, представленными в соответствующих разделах диссертации, возникают дополнительные вопросы:

1. Чем можно объяснить отсутствие значимого нейропротективного эффекта цитиколина при его введении в постишемическом периоде?
2. Зависит ли выраженность нейропротективного эффекта указанного препарата от его концентрации в крови?
3. Может ли предварительное курсовое введение цитиколина за 3-5 суток до моделирования ишемии мозга обеспечить более выраженный защитный эффект?

Заключение о соответствии диссертации требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».

Диссертация Хлёткиной М.С. «Особенности нейропротективного действия цитиколина при экспериментальной ишемии головного мозга» выполнена на высоком научно-методическом уровне, восполняющем пробел в понимании механизмов нейропротективного эффекта цитиколина, что имеет важное значение для практической медицины, поскольку открывает новые возможности для эффективной профилактики вторичных ишемических нарушений головного мозга. На этом основании можно заключить, что диссертация Хлёткиной Марии Сергеевны является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой; по актуальности, объему, научно-методическому уровню, научной новизне и практической значимости соответствующей п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук, а ее автор достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв на диссертационную работу обсужден на заседании секции по поиску биологически активных веществ и разработке лекарственных растительных препаратов Ученого совета ФГБНУ ВИЛАР (Протокол № 6 от «6» ноября 2019 г.).

Заведующий отделом экспериментальной
и клинической фармакологии Центра медицины
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт лекарственных и ароматических растений»

к.м.н.

Екатерина Владимировна Ферубко

(Шифр специальности: 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология)

Адрес: 117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

тел.: 8 (495)388-55-09

e-mail: vilarnii@mail.ru

www.vilarnii.ru

Подпись заведующего отделом экспериментальной и клинической фармакологии Центра медицины ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Екатерины Владимировны Ферубко заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР

к.фарм.н., профессор

«06» ноября 2019 г.

Семкина Ольга Александровна

