

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной работе
ГБОУ ВПО ПСПбГМУ
им. И.П. Павлова
Минздрава России
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор Ю.С. Полушин

«31» мая 2016 г.

ОТЗЫВ

**ведущей организации –Государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего профессионального
образования «Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации на
диссертационную работу Филиной Инги Сергеевны
«Нейропротекторные и иммуностропные свойства фенильных
производных ГАМК и глутаминовой кислоты при ишемии головного
мозга в условиях измененного иммунитета», представленную на
соискание ученой степени кандидата медицинских наук в
диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском
государственном медицинском университете по специальности 14.03.06
- фармакология, клиническая фармакология**

Актуальность темы диссертационного исследования.

Острые нарушения мозгового кровообращения являются одной из важнейших медико-социальных проблем мирового масштаба, что обусловлено их высокой долей в структуре заболеваемости, а также большими показателями инвалидизации и смертности населения. Ишемические поражения головного мозга преобладают над геморрагическими и приводят к нарушению гомеостаза и дисбалансу взаимодействия нервной и иммунной систем. На течение и исход инсульта влияют как патогенетические изменения со стороны нервной системы, так и иммунологически обусловленные факторы, подключающиеся в результате случившегося ишемического повреждения ткани.

Имеется большое количество данных, показывающих, что в результате инсульта происходит супрессия иммунной системы и возрастает риск развития инфекционных заболеваний, что негативно сказывается на состоянии пациентов. Если депрессия иммунная система длительная, стадия разрешения воспаления с очисткой от продуктов некроза и последующая регенерация не наступают, что существенно ослабляет эффективность церебропротекторной терапии. В то же время существует мнение, что иммуносупрессия после инсульта оказывает и положительное влияние на течение данной патологии, так как неконтролируемое воспаление может привести к аутоиммунным осложнениям.

Все это подчеркивает необходимость учитывать при выборе противоинсультных препаратов возможные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем и, соответственно, принимать во внимание особенности действия нейропротекторных средств в условиях различного состояния иммунитета.

С учетом вышеизложенного диссертационное исследование, посвященное экспериментальному изучению церебропротекторных свойств и иммуотропных эффектов фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты – фенибута и нейроголутама, а также препарата церебролизин при ишемии головного мозга в условиях подавленной и стимулированной иммунной системы животных представляется актуальным.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций.

Автором впервые выполнено изучение иммуотропных свойств фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты при однократном и курсовом 14-ти дневном внутрибрюшинном введении и их психотропного действия в условиях развития гуморального иммунного ответа.

Изучение влияния курсового 7-ми дневного лечебного введения фенибута, нейроголутама и препарата церебролизин в наиболее

эффективных дозах при ишемии головного мозга на фоне неизмененного, подавленного и стимулированного иммунитета крыс также проведено диссертантом впервые.

Впервые на основании комплексной оценки влияния фенибута, нейроглутама и церебролизина в данных условиях эксперимента на выживаемость животных, уровень мозгового кровотока, процент гидратации мозговой ткани, неврологический, поведенческий статус животных, сывороточный уровень нейронспецифических белков – NSE и MBP и нейротрофина BDNF дана оценка их нейропротекторного действия при ишемии головного мозга. При этом о состоянии иммунной системы судили по общему анализу крови с дифференциацией лейкоцитов на субпопуляции, массе тимуса и селезенки, уровню провоспалительных цитокинов IL-1b и IL-6 и противовоспалительного интерлейкина IL-4.

Новым являются данные о том, что ишемия головного мозга у животных на фоне подавленного иммунитета протекает тяжелее и с худшим исходом. Отмечена зависимость терапевтического эффекта исследуемых веществ от фонового состояния иммунной системы животных. Так, нейроглютам оказал выраженное нейропротекторное действие при инсульте независимо от иммунного статуса, терапевтический эффект при применении фенибута был более выражен при стимулированном иммунитете, а препарат церебролизин оказывал максимальный терапевтический эффект при неизмененном и подавленном иммунитете.

Практическая значимость исследования.

Результаты представленного исследования о влиянии состояния иммунной системы на течение и последствия острого нарушения мозгового кровообращения указывают на неоднозначность терапевтического действия исследуемых веществ в зависимости от состояния иммунитета. Полученные результаты позволяют рекомендовать дифференцированное применение фенибута, нейроглутама и церебролизина при острых нарушениях

мозгового кровообращения в зависимости от исходного состояния иммунной системы.

О научно-практической значимости проведенного исследования свидетельствует также включение этих материалов в лекции и практические занятия для студентов на кафедрах фармакологии ВолгГМУ, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ и для интернов и слушателей-провизоров, проходящих последипломное усовершенствование на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ.

Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации.

В диссертационной работе И.С. Филиной использованы современные методические подходы исследования фармакодинамических свойств фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты. В работе используются современные методы, рекомендованные «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

Обработка результатов экспериментального исследования проведена с использованием адекватных методов статистической обработки данных.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 162 страницах машинописного текста, иллюстрирована 14 рисунками, 10 таблицами и 2 схемами. Состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов (глава 2), экспериментальных исследований (3-5 глава), обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций и списка литературы, включающего 99 отечественных и 142 зарубежных источника.

Во введении содержатся обоснование актуальности темы диссертационного исследования; степень разработанности проблемы; цель и задачи исследования; научная новизна; теоретическая и практическая значимость; методология и методы; положения, выносимые на защиту;

внедрение результатов исследования; степень достоверности и апробация результатов; личный вклад автора.

В разделе **«Обзор литературы»** автором проведен подробный анализ зарубежной и отечественной литературы, изучающей вклад иммунологических и воспалительных факторов в патогенез развития ишемического повреждения головного мозга. В литературных источниках имеется значительное число экспериментальных и клинических данных, доказывающих изменение иммунного статуса организма, связанного с ишемическим инсультом. Так, в острой фазе острого нарушения мозгового кровообращения активизируются иммунные механизмы, приводящие к воспалению, но в дальнейшем, как компенсаторный механизм, развивается иммунодепрессия.

Вторая глава посвящена **материалам и методам исследования**, которая содержит описание экспериментальных групп и схем, а также применяемых методов. Логично выстроен алгоритм проведения исследования, все методики и применяемые тест-системы отвечают высокому уровню и позволяют всесторонне оценить действие исследуемых веществ. Так, для изучения сывороточной концентрации NSE, MBP, BDNF и интерлейкинов диссертантом использован современный метод ИФА. Оценка поведения и сенсо-моторной функции животных осуществлялась с помощью Rota-Rod теста и теста Открытое поле. Обработка результатов экспериментов проведена с применением современных пакетов статистических программ с использованием методов непараметрической и параметрической статистики.

В третьей главе представлены **результаты** изучения иммунотропной активности производных ГАМК и глутаминовой кислоты при однократном и курсовом внутрибрюшинном введении, а также оценка их психотропного действия в условиях развития иммунного ответа на антиген при курсовом применении. В результате было показано, что фенибут в дозе 25 мг/кг и нейроглютам в дозе 26 мкг/кг оказали выраженное иммуностимулирующее

действие при оценки гуморального, клеточного и врожденного звена иммунитета и оказали активирующее и анксиолитическое действие на поведение животных.

В четвертой главе изложены **результаты** изучения влияния состояния иммунной системы на последствия ишемического поражения головного мозга у животных и церебропротекторного действия фенибута, нейроглутама и препарата церебролизин на модели поэтапной необратимой окклюзии общих сонных артерий в условиях неизмененного, подавленного и стимулированного иммунитета. Показано, что ишемия головного мозга на фоне подавленной иммунной системы протекает значительно тяжелее, чем при неизменной и стимулированной, о чем свидетельствуют: большая летальность животных, высокий неврологический и поведенческий дефицит, низкая сенсо-моторная активность, высокие концентрации маркеров повреждения нейронов и глиии – NSE и MBP. Отмечено, что нейроглютам в дозе 26 мг/кг при введении в течение 7-ми дней после ишемического повреждения головного мозга оказывал церебропротекторное действие не зависимо от состояния иммунной системы крыс, тогда как фенибут в дозе 25 мг/кг - на фоне стимулированной иммунной системы, а препарат церебролизин в дозе 2,5 мл/кг – в условиях неизмененного и подавленного иммунитета.

В Главе 5 представлены **результаты** исследования влияния изучаемых веществ на сывороточную концентрацию провоспалительных цитокинов – IL-1b, IL-6 и противовоспалительного интерлейкина IL-4, массы иммунокомпетентных органов – тимуса и селезенки, оценка которых позволила более объективно судить о состоянии иммунного статуса животных при церебральной ишемии. Результаты показали, что ишемическое поражение головного мозга крыс в условиях иммуносупрессии протекает на фоне повышенного содержания провоспалительных IL-1 β и IL-6. Отмечено, что нейроглютам при всех состояниях иммунитета уменьшал провоспалительный потенциал

иммунной системы, достоверно снижая уровень IL-1 β и IL-6 и увеличивая содержания цитокина IL-4 в сыворотке крыс после ишемического инсульта. Фенибут приводил к аналогичному эффекту при его применении в условиях стимулированного иммунитета, а церебролизин – при неизменном и подавленном.

В завершающей главе **«Обсуждение результатов»** проведен обобщенный анализ полученных данных и их сопоставление с литературными.

Диссертация завершается 9 выводами, которые соответствуют цели и задачам, поставленным во введении. Научно-практические рекомендации и выводы логичны и целиком отражают сущность работы.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и в 14 публикациях, в том числе в 5 статьях, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Рекомендации по использованию полученных результатов.

Необходимо продолжить изучение производных ГАМК и глутаминовой кислоты с целью выявления веществ, способных влиять на основные звенья патогенеза острых нарушений мозгового кровообращения, тем самым оказывая поливалентное нейропротекторное действие в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Результаты и методические разработки, представленные в диссертации И.С. Филиной могут быть использованы в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», на кафедрах фармакологии ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко, а также других учреждений, занимающихся исследованиями новых лекарственных препаратов для коррекции нарушений мозгового кровообращения.

Результаты теоретических и практических разработок автора целесообразно включить в программы преподавания курсов фармакологии

в разделе «средства, применяющиеся при нарушениях мозгового кровообращения» в медицинских университетах страны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Диссертация Филиной Инги Сергеевны «Нейропротекторные и иммуотропные свойства фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты при ишемии головного мозга в условиях измененного иммунитета» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, связанной с изучением возможного дифференцированного применения фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты – фенибута и нейроглутама при ишемическом повреждении головного мозга в условиях различного состояния иммунной системы, имеющей существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

По актуальности темы, новизне полученных результатов, методическому уровню, объему проведенных исследований, научно-практической значимости работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор - И.С. Филина заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Материалы диссертационного исследования и отзыв обсуждены 31 мая 2016 г. на заседании кафедры фармакологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (протокол № 28).

Заведующий кафедрой фармакологии
ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова
Минздрава России, д.м.н., профессор

Э.Э. Звартау

Подпись Э.Э. Звартау заверяю:
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8
Тел. (812) 338-7023
Адрес электронной почты: zvartau@spb-gmu.ru

Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования:

1. Шабанов П.Д. Изменения внутриклеточных потенциалов и ионных токов нейронов моллюсков и активности Cl-каналов под влиянием некоторых тормозных аминокислот и новых литийсодержащих соединений на их основе // Шабанов П.Д., Вислобоков А.И., Шилов Г.Н., Булай П.М., Луговский А.П. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2015. Т. 13. № 3. С. 39-47.
2. Беспалов А.Ю. Стратегии поиска новых средств фармакотерапии заболеваний ЦНС / Беспалов А.Ю. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 999. С. 10.
3. Стурова Ю.В. Прогнозирование синдрома умеренных когнитивных расстройств цереброваскулярной этиологии по данным когнитивных вызванных потенциалов P300 / Стурова Ю.В., Плотникова Н.Р., Костомарова Г.А., Баранцевич Е.Р., Посохина О.В., Вербицкая Е.В. // Кубанский научный медицинский вестник. 2014. № 5. С. 117-122.
4. Вислобоков А.И. Изменения токов нейронов при внутриклеточном действии афобазола и бупивакаина / Вислобоков А.И., Мельников К.Н., Шабанов П.Б. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014. Т. 12. № 3. С. 50-55.
5. Шабанов П.Д. Нейропротекторное действие кортексина и кортагена / Шабанов П.Д., Вислобоков А.И. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2013. Т. 11. № 2. С. 17-25.
6. Шекунова Е.В. Экспериментальные модели когнитивных нарушений / Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. // Международный вестник ветеринарии. 2016. № 1. С. 105-118.
7. Вислобоков А.И. Изменения внутриклеточных потенциалов и ионных токов нейронов моллюсков при вне- и внутриклеточном действии севофлурана и десфлурана / Вислобоков А.И., Звартау Э.Э., Полушин Ю.С., Алферова В.В., Буханков И.Г. // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2015. Т. 12. № 2. С. 65-75.
8. Шмонин А.А. Мета-анализ литературы: транзиторная ишемическая атака перед инсультом - клинический эквивалент ишемического прекондиционирования / Шмонин А.А., Вербицкая Е.В., Мельникова Е.В., Иванова Г.Е. // Вестник восстановительной медицины. 2014. № 1. С. 44-49.
9. Стурова Ю.В. Исследование нейропсихологического статуса и качества жизни у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией / Стурова Ю.В., Баранцевич Е.Р., Посохина О.В., Вербицкая Е.В. // Вестник МУЗ ГБ № 2. 2014. № 4 (34). С. 26-40.

10. Мальцева М.Н. Канис-терапия в реабилитации пациентов в восстановительном периоде ишемического инсульта: простое слепое исследование / Мальцева М.Н., Мельникова Е.В., Шмонин А.А., Вербитская Е.В., Скоромец А.А., Иванова Г.Е. // Вестник восстановительной медицины. 2013. № 6. С. 70-73.

11. Шекунова Е.В. Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение крыс линии Вистар в тесте «Открытое поле» / Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. // Международный вестник ветеринарии. 2013. № 4. С. 80-88.