

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

д.м.н., Покровской Татьяны Григорьевны на диссертационную работу Филиной Инги Сергеевны «Нейропротекторные и иммуотропные 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.

Цереброваскулярные заболевания занимают лидирующее место среди причин смертности и инвалидизации взрослого населения, как в России, так и во всем мире. В настоящее время соотношение ишемического и геморрагического нарушения мозгового кровообращения составляет в среднем около 80–85% и 15–20% соответственно.

Доказано, что в патогенезе острого нарушения мозгового кровообращения важную роль играют иммунные механизмы, но авторы расходятся во мнении относительно их влияния на течение заболевания и его исход. Также, необходимо учитывать наличие тесной связи между механизмами повреждения и восстановления мозга после ишемии, которые проходят при непосредственном участии иммунной системы.

В связи с этим, степень иммунных нарушений, во многом определяющая характер и исход инсульта, может быть частично откорректирована при назначении препаратов, которые обладают, помимо нейропротективной активности, и иммунокорригирующим действием. К подобным веществам могут быть отнесены производные естественных нейромедиаторов, которые обладают комплексом положительных эффектов, формирующих их терапевтический потенциал при цереброваскулярных расстройствах. Это определяет целесообразность экспериментальных исследований производных ГАМК и

глутаминовой кислоты в качестве средств коррекции нарушений мозгового кровообращения ишемического генеза.

Целью исследования явилось экспериментальное изучение эффективности применения фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты – фенибута и нейроглутама, а также референтного препарата - церебролизина для коррекции ишемии головного мозга в условиях неизменной, подавленной и стимулированной иммунной системы животных.

Структура работы. Диссертационная работа изложена на 162 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 3-х глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций и списков сокращений и литературы. Список литературы включает 99 отечественных и 142 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 10 таблицами, 14 рисунками и 2 схемами.

Диссертация построена по традиционному типу. Во введении автор обосновывает актуальность исследования и степень разработанности проблемы, приводит цель и задачи, поставленные для ее достижения, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, т.е. все формальные положения, предъявляемые к вводной части диссертационной работы.

В четко структурированном обзоре литературы представлены современные данные о характере взаимодействия головного мозга как с системой врожденного, так и с системой адаптивного иммунитета, что является очень важным фактором, определяющим степень поражения, объем воспалительной реакции после инсульта и регенерацию после повреждения нервной ткани. Приведены данные отечественных и зарубежных авторов о развитии воспалительной реакции в острый и подострый периоды ишемического инсульта, нарушений врожденного звена иммунитета и инсульт опосредованной иммуносупрессии, возникающих в отсроченный период (5-10 дней).

Глава материалы и методы содержит описание экспериментальных групп животных и схем введения, документов и стандартов, а также методов исследования нейропротекторной и иммунотропной активности изучаемых

веществ. Оценка церебропротекторной активности веществ осуществлялась на основании данных о выживаемости животных, степени выраженности неврологического, сенсо-моторного дефицита, сохранности уровня мозгового кровотока, степени повреждения дифференцированных нейронов (сывороточная концентрация NSE), глиальной ткани (сывороточная концентрация MBP) и гемато-энцефалического барьера (уровень BDNF). При изучении влияния веществ на иммунную систему диссертантом исследован гуморальный и клеточный иммунные ответы, показатели фагоцитоза, уровень основных про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1b, IL-6, IL-4), оценена масса иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки), проведен подсчет лейкоцитарной формулы крови.

В 3-й главе автором проведено экспериментальное изучение иммуотропной активности производных ГАМК и глутаминовой кислоты при однократном и курсовом применении веществ и психотропного их действия на фоне иммунизации мышей линии Balb/c, в ходе которого, у фенильного производного ГАМК – фенибута (25 мг/кг) и фенильного производного глутаминовой кислоты – нейроглутама (26 мг/кг) было выявлено иммуностимулирующее, активирующее и анксиолитическое действие.

В 4-й и 5-ой главах описаны результаты изучения церебропротекторных свойств и влияние на компоненты иммунной системы веществ фенибут (25 мг/кг), нейроглутам (26 мг/кг) и препарата церебролизин (2,5 мл/кг) при лечебном введении в течение 3-х и 7-ми дней после ишемии головного мозга на фоне неизмененного, подавленного и стимулированного иммунитета крыс линии Wistar. В исследовании отражены результаты оценки неврологического, поведенческого и моторного дефицита, содержания сывороточной концентрации нейронспецифических белков (NSE, MBP) и нейротрофинов (NGF, BDNF), уровня сохранности мозгового кровотока и процент гидратации тканей головного мозга после моделирования патологии. Также проведено исследование провоспалительных цитокинов IL-1b, IL-6 и

противовоспалительного интерлейкина IL-4, изменения массы тимуса и селезенки у крыс с ишемическим повреждением головного мозга.

Обсуждение результатов является самостоятельным разделом диссертационной работы, где автор подробно анализирует полученные результаты и сопоставляет их с литературными данными.

Научная новизна. Полученные в исследовании Филиной И.С. результаты и выводы обладают научной новизной, так как сравнительное исследование церебропротекторных свойств и влияния на иммунную систему фенибута, нейроглутама и церебролизина при ишемии головного мозга, смоделированной методом поэтапной необратимой окклюзии общих сонных артерий в условиях неизмененного, подавленного и стимулированного иммунитета было проведено впервые. Автором, на основании данных по выживаемости животных, неврологического, поведенческого и сенсо-моторного дефицита, повышенной сывороточной концентрации нейронспецифической енолазы, основного белка миелина, провоспалительных цитокинов IL-1b и IL-6, показано, что острое нарушение мозгового кровообращения, смоделированное на фоне супрессии иммунной системы, протекает тяжелее, чем при неизмененном и стимулированном иммунитете. Основными, наиболее значимыми результатами данной диссертационной работы, является экспериментальное обоснование дифференцированного применения средств вторичной нейропротекции при ишемическом инсульте. Так, в работе убедительно доказано, что нейроглютам проявляет церебропротекторные свойства и уменьшает воспалительный фон иммунной системы при ишемии головного мозга при всех состояниях иммунитета, фенибут – наиболее эффективен при стимулированном иммунитете, а церебролизин – при неизмененном и подавленном.

Теоретическая и практическая значимость.

Результаты диссертационного 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 средств вторичной нейропротекции (фенибута, нейроглутама и церебролизина) при острых нарушениях мозгового кровообращения в зависимости от фоновой иммунореактивности.

Представленные в диссертации научные положения и результаты изучения влияния иммунной системы на патогенез и исход острого нарушения мозгового кровообращения, а также церебропротекторных и иммуностропных свойств фенибута, нейроглутама и препарата церебролизин при данной патологии в условиях измененного иммунитета используются для лекций и практических занятий студентов кафедр фармакологии ВолгГМУ, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, что является их практическим использованием.

Достоверность и обоснованность результатов и выводов диссертационной работы.

Для диссертационной работы автором выбраны современные методики сбора и обработки исходных данных. Результаты исследования получены на достаточном количестве экспериментальных животных. Методы изучения производных ГАМК и глутаминовой кислоты соответствуют руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Все основные положения диссертационной работы аргументированы и дают основания для дальнейших изучения церебропротекторных свойств производных нейроактивных аминокислот при цереброваскулярных заболеваниях с учетом коморбидного фона иммунной системы. Выверенные цифровые материалы таблиц и построенных графиков достоверны и не вызывают сомнений. Достоверность полученных результатов обеспечена комплексным подходом к изучению церебропротекторной и иммуностропной активности производных ГАМК и глутаминовой кислоты и подтверждается впечатляющим объемом экспериментов, выполненных на большом количестве крыс и мышей, а также выбором адекватных параметрических и непараметрических критериев для статистической обработки результатов.

Автореферат отражает основное содержание диссертации, по материалам которой опубликовано 14 печатных работ, в том числе 5 статей, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Цель, поставленная в диссертации достигнута, поэтому данное исследование можно считать завершенным.

Однако при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Объясните пожалуйста выбор Вами церебролизина в качестве препарата сравнения?

2. Скажите пожалуйста почему для исследования было взято производное глутаминовой кислоты в качестве нейропротектора, ведь глутаминовая кислота может возбуждать NMDa рецепторы, что может усугубить эксайтотоксичность?

В ходе рецензирования данной работы возникло замечание:

1. Вы использовали для оценки степени повреждения структур головного мозга и нейропротекторной активности изучаемых веществ такие показатели, как NSE, MBP и BDNF. Известно, что BDNF является нейротрофином, действующим локально и чаще всего его уровень определяют в поврежденных тканях, а Вы в своей работе изучали его сывороточную концентрацию. Как Вы интерпретировали полученные данные? Не лучше ли было использовать не ИФА метод, а иммуногистохимический анализ?

Заданные вопросы и замечания не умаляют достоинств выполненной работы и носят уточняющий характер.

Заключение. Диссертационная работа Филиной Инги Сергеевны «Нейропротекторные и иммуотропные свойства фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты при ишемии головного мозга в условиях измененного иммунитета», является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, связанной с изучением церебропротекторных свойств и влияние на показатели иммунной системы фенильных производных ГАМК и глутаминовой кислоты

при ишемическом инсульте в условиях различного иммунного статуса экспериментальных животных.

Работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым действующим «Положением о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842) к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Филина Инга Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент, доктор медицинских наук,
профессор кафедры фармакологии
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения
высшего профессионального образования
«Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет»

Покровская Татьяна Григорьевна

Подпись Покровской Т.Г. подтверждаю

г. Белгород, ул. Победы, 85

Телефон: 8 (4722) 30-18-59

Телефон: 8-915-568-41-27

Адрес электронной почты: pokrovskaja-tg@mail.ru

Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования:

1. Иммуномодулирующие, эндотелио- и кардиопротективные эффекты статинов и L-норвалина в условиях эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции / Ивлицкая И.Л., Покровский М.В., Провоторов В.Я., Покровская Т.Г. // Медицинская иммунология. - 2015. - Т. 17. - № 4. - С. 379.

2. Endothelio- and cardioprotective effects of HMG-CoA reductase inhibitors under the condition of endotoxin-induced endothelial dysfunction / Denisuk T.A., Pokrovskii M.V., Philippova O.V., Dolzhikov A.A., Pokrovskaia T.G., Korokin M.V., Gudyrev O.S., Osipova O.A. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2015. - Т. 6. - № 5. - С. 1542-1547.

3. Роль метаболической эндотоксемии в развитии сердечно-сосудистых и обменных заболеваний / Костина Д.А., Покровская Т.Г., Мартынова О.В., Довгань А.П., Литвинова А.С. // Научный результат. Серия: Медицина и фармация. - 2015. - Т. 1. - № 3 (5). - С. 164-171.

4. Фармакологическое preconditionирование эритропоэтином при ишемии конечности / Колесник И.М., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Гудырев О.С., Даниленко Л.М., Корокин М.В., Алехин С.А., Григоренко А.П., Старосельцева О.А., Должикова И.Н., Братчиков О.И., Молчанова О.В., Ефременкова Д.А., Полянская О.С., Филимонов В.А. // Биомедицина. – Т. 1., № 4. – С. 90-92.

5. Влияние дистантного и фармакологического preconditionирования на экспрессию эндоглина и эндотелиальной NO-синтазы в почках в отдаленном периоде после ишемии-реперфузии / Должикова И.Н., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Должиков А.А., Алехин С.А., Колесник И.М., Мягченко С.В., Филимонов В.А., Братчиков О.И. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – Т. 17, № 4-1 (123). – С. 135-141.

6. Коррекция эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции рекомбинантным эритропоэтином и ингибиторами ГМК-КО-А-редуктазы / Денисюк Т.А., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корокин М.В., Гудырев О.С., Резников К.М., Поветкин С.В., Степченко А.А. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 6 (55). – С. 39-43.