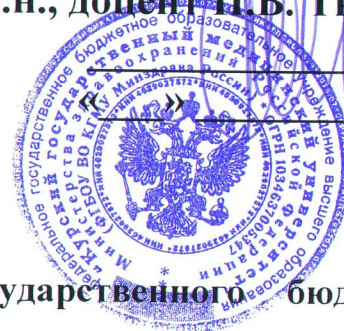


«УТВЕРЖДАЮ»
**Проректор по научной работе и
инновационному развитию ФГБОУ ВО
«Курский государственный медицинский
университет» Минздрава России**
Д.М.Н., доцент П.В. Ткаченко

2017 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации – федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Прокофьева Игоря Игоревича «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот», 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.

В Российской Федерации, как и во всем мире, сердечно-сосудистые заболевания являются одной из важнейших медико-социальных проблем, что обусловлено их высокой долей в структуре заболеваемости, а также большими показателями инвалидизации и смертности населения. Одним из факторов, определяющих течение и исход патологий сердца, является стресс.

В результате чрезмерного по длительности и интенсивности стрессорного воздействия формируется стресс-реакция, приводящая к выбросу стресс-гормонов и развитию повреждений различных органов и систем. Важная роль в патогенезе этих влияний принадлежит активации индуцибельной изоформы NO-синтазы, оказывающей цитотоксические эффекты. Стоит отметить, что оксид азота, синтезированный конститутивными нитрооксидсинтазами, ограничивает

активность стресс-реакции и оказывает стресс-лимитирующее действие. Кроме того, NO модулирует центральные и периферические механизмы, регулирующие функционирование сердечно-сосудистой системы.

Вследствие этого, актуальным является поиск и разработка соединений, ограничивающих повреждающее действие стресса на сердце с учетом их влияния и на систему оксида азота. В литературе имеются сведения о взаимодействии NO и нейромедиаторных систем (ГАМК-, глутаматергической и т.д.). Поэтому в диссертационном исследовании в качестве таких веществ рассматриваются производные нейроактивных аминокислот – глутаминовой (глуфимет) и γ -аминомасляной кислот (фенибут). Выбор соединений обусловлен их кардиопротекторным действием в условиях стрессорного повреждения миокарда, которое значительно ослабляется при неселективном ингибировании NO-синтаз.

На основании вышеизложенного, целесообразным и актуальным представляется оценка роли системы NO в кардиопротекторном действии глуфимета и фенибута, чему и посвящено диссертационное исследование Прокофьева И.И.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций.

На первоначальном этапе диссертационного исследования автором в условиях *in vitro* и *ex vivo* впервые изучено влияние глуфимета и фенибута на сократимость изолированных предсердий интактных и стрессированных крыс в условиях неселективной блокады NO-синтаз, которое позволило выявить периферический NO-ергический компонент в механизме действия соединений. Также впервые проведено исследование кардиопротекторных свойств глуфимета и фенибута при остром стрессорном повреждении и селективной блокаде нитрооксидсинтаз, результаты которого свидетельствуют о влиянии изучаемых производных нейроактивных аминокислот на активность индуцибельной NO-синтазы. Новыми являются данные, показывающие уменьшение под действием глуфимета и фенибута концентрации iNOS, цГМФ и конечных метаболитов оксида азота в липополисахарид-активированных перитонеальных

макрофагах мышей в условиях *in vitro* и *ex vivo*. Очевидно, что изучаемые производные ГАМК и глутамата оказывают ингибирующее влияние на экспрессию iNOS. Также впервые было показано снижение систолического артериального давления при раздельном введении глуфимета и фенибута в боковые желудочки мозга, причем описанное действие глуфимета ослаблялось предварительным введением неселективного ингибитора NO-синтаз – L-NAME. На основании этого закономерно был сделан вывод о наличии центрального NO-ергического компонента в механизме действия глуфимета.

Практическая значимость исследования.

Результаты диссертационного исследования И.И. Прокофьева свидетельствуют об участии системы оксида азота в кардиопротекторном действии глуфимета и фенибута при остром стрессорном повреждении миокарда. Таким образом, полученные данные обосновывают целесообразность разработки лекарственных средств с кардиопротекторным действием и оказывающих влияние на систему NO на основе изучаемых производных нейроактивных аминокислот.

Результаты исследования включены в учебные материалы при обучении студентов на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, кафедре фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ВолгГМУ, а также в научно-исследовательскую работу лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ВолгГМУ, что также свидетельствует о высокой научно-практической значимости проведенного исследования.

Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации.

В диссертационной работе И.И. Прокофьева использованы современные методические подходы, соответствующие поставленным задачам, рекомендованные «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Обработка результатов экспериментального исследования проведена с использованием адекватных статистических методов анализа. Проведение экспериментов соответствовало требованиям Российского

национального комитета по биоэтике при РАН, а также международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных исследованиях. Работа была одобрена Региональным Исследовательским Этическим Комитетом Волгоградской области.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 166 страницах машинописного текста, иллюстрирована 20 рисунками и 8 таблицами. 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 60 отечественных и 253 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 глубокий анализ зарубежной и отечественной литературы, посвященный современным представлениям об участии системы оксида азота в центральных и периферических механизмах регуляции функционирования сердца и модуляции активности стресс-реакции. Описаны как повреждающие эффекты NO при стрессе, заключающиеся в образовании его в больших количествах и переходе в прооксидантное соединение – пероксинитрит, так и его стресс-лимитирующие свойства, связанные с ограничением выброса катехоламинов и глюкокортикоидов корой надпочечников, адреналина – из симпатических нервных окончаний, а также АКТГ и вазопрессина из передней доли гипофиза. В обсуждаемом разделе также приведены данные о сложных взаимовлияниях NO и ГАМК- и глутаматергической систем. В целом, обзор литературы раскрывает научное состояние изучаемой проблемы и определяет актуальность исследования роли системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных ГАМК и глутамата.

Вторая глава посвящена подробному описанию **материалов и методов исследования**. Выбранные диссертантом методологические подходы соответствовали поставленным задачам. В работе использован адекватный и современный метод твердофазного ИФА по изучению концентрации индуцибельной изоформы NOS и цГМФ в активированных перитонеальных макрофагах мышей. Периферический NO-ергический механизм изучаемых соединений – глуфимета и фенибута, был показан *in vitro* на изолированных предсердиях крыс при стимуляции β_1 -адренорецепторов. В данном разделе приводится подробное описание биохимических методов исследования по изучению концентрации конечных метаболитов оксида азота, продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов, функционального состояния митохондрий клеток сердца и мозга крыс в условиях стрессорного воздействия и селективной блокады NO-синтаз. Центральный NO-ергический компонент глуфимета и фенибута оценивался по изменению систолического артериального давления при введении в боковые желудочки мозга изучаемых веществ и блокаторов NO-синтаз и ГАМКа-рецепторов. Обработка результатов экспериментов проведена с применением современных пакетов статистических программ с использованием методов параметрической статистики.

В третьей главе представлены **результаты** изучения *in vitro* и *ex vivo* влияния глуфимета и фенибута на выраженность инотропной реакции изолированных предсердий интактных и стрессированных крыс при стимуляции β_1 -адрено- и М-холинорецепторов в условиях подавления синтеза оксида азота. В результате было показано, что глуфимет и фенибут *in vitro* в концентрации 1×10^{-5} М снижают прирост сократимости изолированных предсердий интактных животных при стимуляции дофамином и не оказывают такого эффекта при неселективной блокаде NO-синтаз, что свидетельствует о наличии периферического NO-ергического компонента в механизме их действия.

В четвертой главе изложены **результаты** изучения влияния производных нейроактивных аминокислот – глуфимета и фенибута, на концентрацию конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови, гомогенатах сердца и головного

мозга, уровень продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов, дыхательную функцию митохондрий в клетках сердца и мозга, а также на показатели сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного звеньев гемостаза и уровень артериального давления у животных, подвергшихся острому иммобилизационно-болевого воздействию на фоне селективного ингибирования NO-синтаз (нейрональной и индуцибельной). Показано, что изучаемые соединения снижали концентрацию нитрит- и нитрат-ионов в сыворотке крови, сердце и мозге, выраженность процессов ПОЛ, повышали активность антиоксидантных ферментов, сопряжение процессов окисления субстратов и синтеза АТФ в митохондриях сердца и мозга, а также уменьшали степень и скорость агрегации тромбоцитов и нормализовали АД при стрессорном воздействии. Вышеназванные эффекты у глуфимета и фенибута были отмечены при ингибировании нейрональной NOS и отсутствовали при блокаде индуцибельной NO-синтазы, что, вероятно, свидетельствует об их влиянии на функционирование данного фермента.

В главе 5 представлены **результаты** исследования влияния изучаемых соединений на изменение систолического АД на фоне неселективной блокады NOS при введении глуфимета и фенибута в боковые желудочки мозга. На основании полученных данных был сделан вывод о наличии центрального NO-ергического компонента в механизме действия глуфимета.

Также в пятой главе было показано действие производных ГАМК и глутаминовой кислоты на экспрессию индуцибельной NO-синтазы на модели липополисахарид-активированных перитонеальных макрофагов мышей. Выявлено, что глуфимет и фенибут снижают концентрацию iNOS, цГМФ и концентрацию метаболитов NO в лизатах перитонеальных макрофагов, что может свидетельствовать об ингибирующем влиянии изучаемых соединений на экспрессию iNOS.

В главе «**Обсуждение результатов**» автором представлен серьезный анализ полученных данных с учетом современной отечественной и зарубежной

литературы. Высказываемые заключения хорошо аргументированы, что показывает высокую квалификацию соискателя и его научную эрудицию.

Работа логично завершается выводами, соответствующими поставленным задачам, отражающими суть полученных сведений и вытекающими из содержания работы.

Основные результаты диссертации работы отражены в автореферате и 13 статьях, 7 из которых опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Рекомендации по использованию полученных результатов.

Рекомендовано продолжить изучение в ряду производных ГАМК и глутаминовой кислоты веществ, обладающих кардиопротекторным действием и влияющих на систему оксида азота с целью разработки потенциальных лекарственных средств для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Результаты теоретических и практических разработок автора целесообразно включить в программы преподавания курсов фармакологии в разделе «средства, применяющиеся при сердечно-сосудистых заболеваниях» в медицинских университетах страны.

Однако при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Почему именно эти производные ГАМК и глутаминовой кислоты были выбраны для исследования?
2. Каким образом изучаемые производные нейроактивных аминокислот оказывают ингибирующее влияние на экспрессию индуцибельной изоформы NO-синтазы?

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Прокофьева Игоря Игоревича «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, связанной с изучением центрального и периферического NO-ергического

компонента в механизме кардиопротекторного действия производных ГАМК и глутаминовой кислоты – фенибута и глуфимета при остром стрессорном повреждении миокарда, имеющей существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

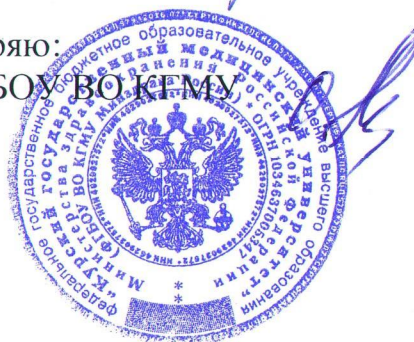
По актуальности темы, новизне полученных результатов, методологическому и методическому уровню, объему проведенных исследований, научно-практической значимости работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – И.И. Прокофьев заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Материалы диссертационного исследования и отзыв обсуждены на заседании кафедры фармакологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России протокол №7 от 17.11.2017 г .

Профессор кафедры фармакологии
ФГБОУ ВО «Курский государственный
медицинский университет»
Минздрава России, д.б.н.

Е.Б. Артюшкова

Подпись д.б.н. Артюшковой Е.Б. заверяю:
Ученый секретарь ученого совета ФГБОУ ВО КГМУ
Минздрава России, д.б.н., доцент



О.А. Медведева

« 17 » 11 2017 г.

Контактные данные:
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3
Тел. (4712) 588-137
Адрес электронной почты: kurskmed@mail.ru

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Прокофьева Игоря Игоревича на тему «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

1. Полное название: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
2. Сокращенное название: ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России
3. Ректор – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ Лазаренко Виктор Анатольевич
4. Адрес: 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3
5. Телефон: 8(4712)58-81-32
6. Сайт: <https://kurskmed.com/>
7. Электронная почта: kurskmed@mail.ru
8. Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Маль, Г.С. Фармакологическая коррекция уровня перекисного окисления липидов при экспериментальной эндотелиальной дисфункции / Г.С. Маль, Е.Б. Артюшкова, Т.М. Григорьева и др. // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2015. – № 3. – С. 79-83.

2. Маль, Г.С. Эффективность гиполипидемической терапии с использованием ингибиторов синтеза и абсорбции холестерина в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний / Г.С. Маль, М.В. Звягина // CardioСоматика. – 2013. – № S1. – С. 64-65.

3. Белоус, А.С. Экспериментальное исследование коррекции эндотелиальной дисфункции кардостином / А.С. Белоус, Е.Б. Артюшкова, Е.В. Трубникова, К.И. Лавриненко // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2014. – № 1. – С. 5-9.

4. Суханов, Д.С. Гепато- и эндотелиопротективное действие рунихола и адеметионина при экспериментальном поражении печени противотуберкулезными препаратами в сочетании с алкоголем / Д.С. Суханов, Е.Б. Артюшкова, В.Т. Дудка // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 2. – С. 45-49.

5. Белоус, А.С. Оценка коррекции морфологических изменений при моделировании эндотелиальной дисфункции сверхмалыми дозами антител к eNOS на 28-дневной модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2014. – Т. 26, № 11-1 (182). – С. 127-130.

Проректор по научной работе
и инновационному развитию
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России,
д.м.н., доцент



П.В. Ткаченко