

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Прокофьева Игоря Игоревича «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность избранной темы. В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре смертности населения многих стран мира. Причем одним из основных провоцирующих факторов развития патологии сердца и сосудов является стресс.

В патогенезе стрессорного повреждения миокарда одну из главных ролей играют глюкокортикоиды и катехоламины, гиперпродукция которых приводит к накоплению внутриклеточного кальция, активации процессов перекисного окисления липидов, дисфункции митохондрий и, в конечном счете, к повреждению кардиомиоцитов. Система оксида азота ограничивает стрессорные влияния на миокард, модулирует симпатическую и парасимпатическую регуляцию работы сердца, участвует в метаболизме кардиомиоцитов. Однако при длительном стрессе усиливается экспрессия индуцибельной нитрооксидсинтазы, производящей оксид азота в больших количествах, который, превращаясь в пероксинитрит, оказывает токсическое действие. Таким образом, нельзя однозначно оценить участие системы NO как повреждающее или благоприятное при стрессорном повреждении.

Во многих отечественных и зарубежных работах показана функциональная взаимосвязь между системами NO и нейроактивных аминокислот. Активация глутаматных NMDA-рецепторов приводит к

усилению экспрессии конститутивных NO-синтаз, оксид азота опосредует выброс ГАМК из синаптических везикул.

Вследствие этого, актуальным является поиск веществ, оказывающих выраженное кардио- и стресспротекторное действие и влияющих на систему оксида азота среди производных нейроактивных аминокислот. Изучению NO-ергического компонента в механизме кардиопротекторного действия нового производного глутаминовой кислоты – глуфимета и производного ГАМК – фенибута и посвящена диссертационная работа Прокофьева И.И.

Научная новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертантом впервые показан периферический NO-ергический механизм действия изучаемых производных глутаминовой кислоты и ГАМК в условиях *in vitro* на изолированных предсердиях. Выявлено снижение под действием глуфимета и фенибута уровня конечных метаболитов NO в крови, гомогенатах сердца и головного мозга, уровня продуктов ПОЛ, повышение активности антиоксидантных ферментов, показателей дыхания митохондрий, нормализация параметров системы гемостаза и АД при стрессорном воздействии и отсутствие этих эффектов при ингибировании индуцибельной NO-синтазы. Автором показано ингибирующее влияние изучаемых соединений на экспрессию iNOS, а также центральный NO-ергический компонент в механизме действия глуфимета.

Степень достоверности и обоснованности результатов и выводов. Исследование проведено на высоком современном методическом уровне с использованием методик, адекватных поставленным задачам. Результаты получены в экспериментах, которые выполнены на достаточном количестве животных и обработаны в зависимости от вида распределения первичных данных с использованием современных методов статистического анализа (пакеты статистических программ Statistica) и не вызывают сомнений. Поставленные задачи решены полностью. Научные положения, выводы и

рекомендации диссертации логично вытекают из проведенных исследований, что позволяет считать их обоснованными.

Научно-практическая значимость полученных соискателем результатов определяется тем, что показаны новые аспекты механизма действия производного ГАМК - фенибута и нового производного глутамата - глуфимета, которые заключаются в реализации их кардиопротекторного действия через систему оксида азота. NO является универсальной молекулой-регулятором многих физиологических функций в организме. В связи с этим, закономерно рекомендован поиск среди производных нейроактивных аминокислот соединений, ограничивающих стрессорные повреждения миокарда и модулирующих NO-ергическую систему, в частности, путем ингибирования индуцибельной изоформы NO-синтазы.

О научно-практической значимости проведенного исследования свидетельствует включение его материалов в лекции и практические занятия 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.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа Прокофьева Игоря Игоревича изложена на 166 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 3 главы результатов экспериментов, их обсуждение, выводы, научно-практические рекомендации, список сокращений и список литературы. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 20 рисунками. Библиографический указатель включает 313 публикаций, из них 60 отечественных источников, 253 зарубежных.

Во введении обоснована актуальность избранной темы с учетом современного состояния, степени ее разработанности, четко сформулированы цель и задачи исследования, выделены научная новизна и практическая

значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, представлены апробация результатов исследования, сведения о публикациях основных результатов и возможностях их внедрения, т.е. этот раздел диссертации отвечает всем формальным требованиям, которые к нему предъявляются.

В обзоре литературы подробно представлены данные о роли оксида азота в функционировании сердечно-сосудистой системы, об участии NO в развитии стрессорных повреждений сердца. Показано, что острый стресс приводит к повреждению кардиомиоцитов и снижению инотропных резервов сердца, а система оксида азота оказывает стресс-лимитирующее действие. Данные литературы подчеркивают сложность в функциональном взаимодействии NO и нейроактивных аминокислот. Базируясь на этих данных, автор обосновывает выбор перспективности изучения NO-ергического механизма кардиопротекторного действия производных нейроактивных аминокислот. Обзор обосновывает цель исследования.

В разделе «Материалы и методы» описаны современные и адекватные методы по изучению *in vitro* и *ex vivo* влияния исследуемых веществ на сократимость изолированных предсердий крыс в условиях дефицита NO, по изменению концентрации конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови, гомогенатах сердца и головного мозга стрессированных крыс, а также изменению показателей оксидантного статуса, дыхательной функции митохондрий клеток сердца и головного мозга, параметров системы гемостаза и уровень артериального давления. Автором приводится описание методики изучения центрального NO-ергического компонента кардиопротекторного действия глуфимета и фенибута, основанной на регистрации изменения систолического АД при введении исследуемых производных нейроактивных аминокислот в боковые желудочки мозга. Для определения концентрации индуцибельной изоформы NO-синтазы и цГМФ в лизатах перитонеальных макрофагов диссертантом выбран широко применяемый метод твердофазного

ИФА. Кроме того, в данном разделе указаны количество и виды лабораторных животных, использованные вещества, их дозы, кратность и пути введения.

В главе 3 («Результаты исследования») показано, что глуфимет и фенибут *in vitro* на изолированных предсердиях крыс подавляют инотропный эффект, вызванный активацией β_1 -адренорецепторов и не оказывают подобного эффекта в условиях неселективной блокады NO-синтаз, что, вероятно, свидетельствует об участии системы NO в механизме их действия. При внутрибрюшинном введении интактным и стрессированным животным исследуемых соединений и ингибитора NOS не было обнаружено периферического NO-ергического компонента в механизме действия изучаемых производных нейроактивных аминокислот.

В главе 4 при изучении NO-ергического механизма кардио- и стресспротекторных влияний глуфимета и фенибута в условиях селективного ингибирования NO-синтаз обнаружено, что исследуемые соединения снижают концентрацию конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови, гомогенатах сердца и головного мозга стрессированных крыс, а также уменьшают выраженность оксидативного стресса, повышают дыхательную функцию митохондрий клеток сердца и головного мозга, нормализуют показатели гемостаза и уровень АД при блокаде нейрональной NOS и не оказывают данного действия при блокаде индуцибельной NOS. На основании этого логично было предположить влияние глуфимета и фенибута на активность или экспрессию iNOS.

В 5 главе показан центральный механизм действия глуфимета, который выражался в отсутствии изменения систолического артериального давления при введении изучаемого производного глутамата в боковые желудочки мозга на фоне неселективной блокады NOS. Фенибут реализовал этот эффект как при ингибировании NO-синтаз, так и ГАМК_A-рецепторов. Помимо этого изучено влияние глуфимета и фенибута на экспрессию индуцибельной NO-синтазы в липополисахарид-активированных перитонеальных макрофагах мышей при добавлении исследуемых веществ *in vitro* в лунки планшета для

культивирования и при внутрибрюшинном их введении. Показано, что изучаемые производные нейроактивных аминокислот снижают концентрацию iNOS и цГМФ в активированных макрофагах, а также уровень нитрит- и нитрат-ионов в среде их культивирования.

Обсуждение результатов проведено на основе сопоставления собственных данных с литературными. Обсуждается роль NO-ергической системы в стресс-реакции и возможный механизм кардиопротекторного действия глуфимета и фенибута, связанный с влиянием на систему оксида азота.

Выводы и научно-практические рекомендации подтверждены полученными результатами и согласуются с целью и задачами исследования.

Материалы исследования опубликованы в 13-ти печатных работах, в том числе, в 7-ми статьях – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на различных научных конференциях.

Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Отмечая в целом высокий уровень выполненного исследования, считаю необходимым задать следующий вопрос:

1. Почему изучение NO-ергического механизма кардиопротекторного действия глуфимета и фенибута проводили при селективном ингибировании нейрональной и индуцибельной NO-синтаз, и не изучали таковой при блокаде эндотелиальной NOS?

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет, кроме незначительных редакционных, которые не носят принципиального характера и не умаляют общего положительного мнения о диссертации, а заданные вопросы носят уточняющий характер.

Заключение. Диссертационная работа Прокофьева Игоря Игоревича «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение

актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии – изучение производных ГАМК и глутаминовой кислоты с кардиопротекторной активностью, влияющих на систему оксида азота.

По актуальности темы и решаемых задач; новизне полученных результатов; объему, методическому уровню проведенных исследований, теоретической и научно-практической значимости полученных результатов, диссертационная работа полностью соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013г. с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), установленным для кандидатских диссертаций, а ее автор, Прокофьев Игорь Игоревич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Заведующий кафедрой фармакологии
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»,
д.м.н., профессор

М.В. Покровский

Подпись М.В. Покровского заверяю:



308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85
Тел: 8 (4722) 30-12-11
Факс: 8 (4722) 30-10-12 8, (4722) 30-12-13
mpokrovsky@yandex.ru

**Сведения об официальном оппоненте
по диссертации Прокофьева Игоря Игоревича «Роль системы оксида азота в кардиопротекторном действии производных нейроактивных аминокислот» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология**

Ф.И.О. оппонента	Покровский Михаил Владимирович
Год рождения, гражданство	1960, РФ
Учёная степень	доктор медицинских наук
Шифр и наименование специальностей, по которым защищена диссертация	14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология
Ученое звание (по специальности, кафедре)	профессор
Шифр специальности и отрасль науки	14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология, медицинские науки
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород
Занимаемая должность	Заведующий кафедрой фармакологии
Почтовый индекс, адрес	308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85
Телефон	8 (4722) 30-12-11
Адрес электронной почты	mpokrovsky@yandex.ru
Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<p>1. Покровский, М.В. Эндотелиопротективные эффекты адеметионина при эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, Т.А. Хадиева // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, № 8. – С. 169-172.</p> <p>2. Покровский, М.В. Эндотелиопротективные эффекты таурина при эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, Т.А. Хадиева // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, № 8. – С. 173-176.</p> <p>3. Даниленко, Л.М. Изучение механизмов кардиопротективного эффекта 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата / Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, М.В. Корокин, О.С. Гудырев // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 1. – С. 24-26.</p> <p>4. Корокин, М.В. Исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов эналаприла, лозартана и амлодипина при моделировании гипергомоцистеин-индуцированной эндотелиальной дисфункции / М.В. Корокин, М.В. Покровский, В.И. Кочкаров и др. // Российский медико-биологический вестник им. Академика И.П. Павлова. – 2014. - № 1. – С. 60-65.</p> <p>5. Даниленко, Л.М. Кардиопротективные</p>

эффекты ресвератрола при ишемических и реперфузионных повреждениях миокарда / Л.М. Даниленко, **М.В. Покровский** // Российский медико-биологический вестник им. Академика И.П. Павлова. – 2015. - № 4. – С. 30-34.

Заведующий кафедрой фармакологии
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»,
д.м.н., профессор

М.В. Покровский

Личную подпись
удостоверяю
Документовед
управления
по развитию
персонала и
кадровой работе

