

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Резникова Константина Михайловича о диссертационной работе Ефимовой Алены Олеговны на тему: «Фармакологические свойства экстракта *Hirudo medicinalis*, мази и геля на его основе при накожном применении (экспериментальное исследование)», представленной в диссертационный совет Д 208.008.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки)

Актуальность темы

Одним из важных направлений современной фармакологии является создание лекарственных средств на основе экстрактов животного происхождения. Наглядным примером может служить пиявка медицинская *Hirudo medicinalis*, которая долгое время успешно используется в медицине. Длительный процесс интенсивного изучения механизмов действия биологически активных соединений, продуцируемых медицинскими пиявками, создает предпосылки для расширения области применения гирудотерапии и создания ряда лекарственных препаратов на основе секрета слюнных желез пиявки.

Физиологическая ценность экстракта пиявок сохраняется как при оральном введении, так и при накожных аппликациях. Биологически активные соединения, продуцируемые пиявками, при курсовом нанесении на кожу улучшают синтез белка, пролиферацию клеток, питание тканей, проявляют противовоспалительное действие, что учитывается при создании косметической продукции на основе экстрактов. Терапевтическая активность препаратов проявляется и при включении их в программы комплексного лечения пациентов с сердечно-сосудистыми и воспалительными заболеваниями. Экспериментальные исследования фармакологической активности лекарственной субстанции гирулюкс (водный экстракт медицинских пиявок)

показали, что при накожных курсовых аппликациях проявляется ярко выраженное противовоспалительное и ранозаживляющее действие.

Предметом исследования является сравнительный анализ специфической фармакологической активности лекарственных препаратов на основе экстракта медицинских пиявок: гирулюкс, 1% гель для наружного применения и гирулюкс, 1% мазь для наружного применения» по сравнению с препаратами гепарина и диклофенака. Учитывая многокомпонентность, природное происхождение, низкий профиль преclinical токсичности экстракта медицинских пиявок, а также актуальность создания высокоэффективных и безопасных средств местного применения представляется важным провести научное исследование в соответствии с действующими в настоящее время методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных препаратов.

Имеются перспективы продолжения дальнейших исследований для установления и экспериментального обоснования возможных новых и опосредованных фармакологических эффектов изучаемых препаратов, а также разработка дополнительных лекарственных форм, что и подтверждает актуальность и важность настоящей диссертационной работы А.О. Ефимовой.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, содержащихся в диссертации

Результаты и основанные на них выводы диссертационной работы Ефимовой А.О. получены с использованием достаточного количества экспериментальных животных, современных научных методов, позволяющих получить достоверную информацию о фармакологической активности (противовоспалительной и антикоагулянтной) потенциальных лекарственных препаратов на основе экстракта пиявки *Hirudo medicinalis*. В диссертационной работе представлены цифровые материалы в таблицах и рисунках, явившихся основой для сопоставительного анализа и формулировки основных положений научного исследования. Стандартное получение цифровых показателей дало возможность использовать для анализа проверяемые данные, а параллельные опыты с препаратами позитивного контроля объективизируют

экспериментально полученные материалы, которые можно сравнивать с результатами других исследователей. Поставленные задачи решены полностью, следовательно, работу можно считать завершенной. Достоверность результатов обоснована использованием современной научной методологии, получением повторяемых результатов и применением современных адекватных методов статистической обработки количественных данных.

Выводы и практические рекомендации диссертации полностью основаны на конкретных материалах работы и логически следуют из полученных автором результатов.

Результаты исследования достаточно полно отражены в центральной печати. По теме диссертации опубликовано всего 15 работ, в том числе 7 – в научно-рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Научная новизна исследования

В работе автора установлено, что экстракт пиявки медицинской, гель и мазь на его основе в экспериментах на животных обладают противовоспалительной и гипокоагулирующей активностями. Сравнительный анализ действия мази гирулюкс и мази гепарина при ожогах кожи у крыс показал, что экстракт пиявки по эффективности не уступает препарату сравнения гепарину. Впервые обнаружено, что при накожных аппликациях лекарственной субстанции происходит достоверное увеличение времени свертывания крови кроликов.

При исследовании действия экстракта пиявок *Hirudo medicinalis* при накожном применении у белых нелинейных крыс и мышей (однократное и хроническое воздействие) показано отсутствие выраженных токсических эффектов. Не выявлено достоверное изменение интегральных показателей - скорости прироста массы тела, потребления пищи и воды для всех опытных групп в сравнении с контрольной.

Выявлены ранее неизвестные закономерности отсутствия изменений таких показателей как гематологические, биохимические, интегральные;

функционального состояния систем и органов, а также морфологических структур внутренних органов экспериментальных животных при нанесении исследуемых средств на кожу. Мягкие лекарственные формы экстракта медицинской пиявки «Гирулюкс, мазь для наружного применения», «Гирулюкс, гель для наружного применения» производства ЗАО «Международный Центр Медицинской Пиявки» (Московская обл., Россия) не обладают выраженными токсическими эффектами, местно-раздражающим действием в дозах, многократно превышающих терапевтические для человека, и могут быть рекомендованы для клинических исследований.

Научно-практическая значимость работы

В работе получены новые знания о возможностях использования живых объектов (пиявки) для создания эффективных и безопасных препаратов местного и резорбтивного действия, которые могут быть внедрены в учебный процесс кафедр фармакологии и технологии лекарственных форм. Результаты работы свидетельствуют о возможности получения на основе экстракта пиявки медицинской лиофилизированной, лекарственных препаратов мягких лекарственных форм - «Гирулюкс, мазь для наружного применения» и «Гирулюкс, гель для наружного применения», обладающих противовоспалительным и антикоагулянтным действием. На основании проведенного анализа диссертационной работы можно считать, что соискателем положена новая научная идея создания лекарственных средств комбинированного действия, которая при использовании современных методов исследования позволяет дополнить научную концепцию о механизмах фармакологической коррекции нарушений при венозной патологии. Хотелось бы выяснить, какие заявки на изобретения были оформлены в процессе получения приоритетных данных.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 122 страницах текста машинописного текста. Структура диссертации построена по традиционному типу и состоит из введения, трёх глав, посвященных обзору литературы, анализу

результатов собственных исследований и обсуждению полученных данных, а также заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа включает 26 таблиц и 8 рисунков. Список литературы состоит из 213 источников, из которых 104 работа является отечественной и 109 – зарубежными.

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулирована его цель и задачи, определены научная новизна и практическая значимость работы, приведены основные положения, вынесенные на защиту.

Глава 1 посвящена обзору литературы, где в полной мере раскрыты существующие представления по изучаемой проблеме, отражены последние научные данные о степени изученности и обоснования биологических эффектов компонентов пиявки медицинской *Hirudo medicinalis* при различных заболеваниях. Положительно оценивая глубокие знания диссертанта по изучаемой проблеме, следует указать на мелкие недочеты оформления, в частности, неудачные выражения (с.5) «пиявки имеют опыт»; не во всех случаях описания отдельных научных фактов имеются ссылки на авторов, например, с.23 по эффектам эндотелина, с.32 по описанию ожогов и др. Автор детально анализирует малоизученные конкретные научные материалы в данной сфере и убедительно обосновывает перспективу создания и применения в медицинской практике лекарственных средств на основе экстракта *Hirudo medicinalis*.

Таким образом, А.О. Ефимова, исходя из существующих пробелов в вопросах изучения возможности широкого применения экстракта пиявки медицинской *Hirudo medicinalis* в различных формах лекарственных средств, убедительно обосновывает актуальность и востребованность темы своей работы.

Глава 2 «Материалы и методы исследований» описывает все этапы работы, соответствующие поставленным задачам и набор научных методов, с помощью которых было реализовано данное исследование.

Эксперименты проведены на 100 мышах при изучении фармакологической активности препаратов, 120 белых мышах при изучении токсичности, 320 белых крысах, при изучении фармакологической активности

исследованных образцов, и 80 крысах в токсикологическом исследовании, а также 40 кроликах породы Шиншилла при изучении фармакологической активности препаратов.

Эксперименты выполнялись согласно методическим руководствам и нормативным документам (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96; правила и Международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997); правила лабораторной практики (GLP) в Российской Федерации, утвержденные приказом Минздрава РФ от 19 июня 2003 г. № 267). Забой животных проводили с соблюдением требований, изложенных в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1997). В течение 24 часов до начала экспериментов все животные находились в условиях полной пищевой депривации со свободным доступом к воде. На момент выполнения исследований животные были здоровыми, без изменений поведения. Исследования проведены в соответствии с нормативными документами АО «ВНЦ БАВ» по исследованиям на животных и процедуры их проведения утверждены этической комиссией АО «ВНЦ БАВ» от 23.12.2014 протокол № 158 -2014.

Ранее на базе ЗАО «МЦМП» были разработаны нормативные документы ПР-18256912-02-06, а также ФСП-Р №001949/01-290411, в котором описаны параметры соответствия, условия контроля и производства ЭМП.

В главах 3-4 представлены результаты исследований фармакологической активности, острой, подострой токсичности и местнораздражающего действия. Исследование фармакологических свойств субстанции гирулюкс, препаратов «гирулюкс 1% гель для наружного применения» и «гирулюкс 1% мазь для наружного применения», содержащих экстракт пиявки медицинской *Hirudo medicinalis* достоверно угнетают отек лап на формалиновой модели воспаления; при моделировании фетровой гранулемы у крыс субстанция экстракта медицинской пиявки достоверно уменьшает экссудативную реакцию отека. Вопрос: «Почему обе лекарственные формы 1%?».

Экстракт пиявки медицинской и гель с экстрактом, достоверно уменьшают время восстановления тканей при геморрагических повреждениях у крыс. Установлено, что экстракт пиявки медицинской и мазь на его основе, при накожном ежедневном нанесении в течение 12 дней при ожоговых повреждениях достоверно ускоряют заживление ожоговых ран в отличие от действия мази гепарина. Ежедневное в течение 10 дней курсовое накожное нанесение кроликам мази с экстрактом пиявки в дозе 0,03 АТЕ/кг приводит к увеличению времени свертывания крови подопытных животных в среднем в 1,3 раза, а при использовании геля с экстрактом пиявки в 1,2 раза ($p < 0,05$).

В ходе токсикологического исследования проводили определение относительной массы органов подопытных животных, получавших препараты гирулюкс в дозах 80, 400 и 800 мг мази/кг и геля/кг в течение 30 дней - достоверных изменений по сравнению с контролем не выявлено. Вопрос: Как при накожном введении удастся увеличивать дозу до 10 раз? При субхроническом исследовании в течение 30 дней вследствие накожного нанесения в дозах 80, 400 и 800 мг мази/кг и геля/кг не происходило сколь угодно существенных структурных изменений в органах и тканях подопытных животных. Несколько сравнительных микрофотографий могли бы еще более объективизировать данное утверждение.

Глава 5 «Обсуждение результатов» посвящена оценке полученных результатов. В данной главе автор приводит не только сравнение собственных данных с другими опубликованными результатами, но и показывает возможности новых направлений исследования экстракта пиявки медицинской *Hirudo medicinalis*, а также лекарственных препаратов на его основе. Соискатель также обосновывает и наглядно демонстрирует на рисунке уникальные механизмы проникновения активных компонентов экстракта пиявки в глубокие слои кожи и сосудистое русло, что убедительно объясняет возможность высокой эффективности лекарственных средств на основе экстракта *Hirudo medicinalis*.

В разделе «Выводы» автор работы кратко подводит итоги выполненного исследования, подчеркивает его основные положения и обобщает научно-практический вклад своего труда.

Все представленные выводы являются обоснованными, отражают суть исследования, полностью соответствуют поставленной цели и задачам диссертационной работы. Практические рекомендации носят важный научно-прикладной характер и могут быть использованы в клинической практике. Логика изложения экспериментальных данных, визуализация изученных показателей, умение грамотно сопоставлять полученные данные и делать аргументированные выводы свидетельствуют о том, что диссертант овладел научным методом и может самостоятельно решать научные проблемы в области фармакологии.

Автореферат оформлен по существующим правилам и содержит все основные материалы, полученные в эксперименте. Замечаний по сути данной диссертационной работы нет.

Заключение

Диссертационная работа Ефимовой Алены Олеговны «Фармакологические свойства экстракта *Hirudo medicinalis*, мази и геля на его основе при накожном применении (экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой, в ходе которой доказана специфическая фармакологическая активность и отсутствие острой токсичности, общетоксического и местнораздражающего действия изучаемых средств, что послужило обоснованием подготовки документации для регистрации лекарственных препаратов «Гирулюкс, мазь для наружного применения» и «Гирулюкс, гель для наружного применения». Следовательно, в работе решена важная задача фармакологии: разработка новых лекарственных средств местного и резорбтивного действия.

По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости диссертация Ефимовой А.О. «Фармакологические свойства экстракта *Hirudo medicinalis*, мази и геля на его основе при накожном применении

(экспериментальное исследование)» полностью соответствует требованиям п.9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 2.08.2016 г.), а автор – Ефимова А.О. – заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – «фармакология, клиническая фармакология».

Доктор медицинских наук
по специальности 14.03.06 – Фармакология,
клиническая фармакология, профессор
кафедры фармакологии
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»

К.М. Резников

Даю согласие на сбор, обработку и
хранение персональных данных
« 10 » 02 2020 г.

К.М. Резников

394036, Российская Федерация, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10
Тел. +7 (473) 2593805; 2531065; 2550131
Электронная почта: VRKMF@yandex.ru

Подписи проф. К.М. Резникова Удостоверяю

Начальник УК ВГМ



С.И. Скорынин

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

по диссертации Ефимовой Алены Олеговны на тему: «Фармакологические свойства экстракта *Hirudo medicinalis*, мази и геля на его основе при накожном применении (экспериментальное исследование)» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

ФИО оппонента	Резников Константин Михайлович
Учёная степень	Доктор медицинских наук
Шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация	14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология
Учёное звание (по специальности, кафедре)	профессор
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»
Занимаемая должность	профессор кафедры фармакологии
Почтовый индекс, адрес	394036; Российская Федерация, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10
Телефон	+7 (473) 2593805; 2530476; 2555753
Адрес электронной почты	pharma@vsmaburdenko.ru
Список основных публикаций оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	<ol style="list-style-type: none"> 1. Тверской А.В., Щерблякина О.В., Колесниченко П.Д., Щерблякин Д.В., Нестеров А.В., Нестерова Н.И., Резников К.М., Покровский М.В. Церебропротекторные эффекты карбамилированного дарбэпозитина на четырехсосудистой модели ишемии-реперфузии головного мозга крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2019. Т. 82. № 5. С. 10-13. 2. Резников К.М., Новикова Л.А. Новые подходы к лечению поражений кожи. В сборнике: Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии Материалы Международной конференции. Весенняя сессия. Под редакцией проф. Е.Л. Глориозова. 2018. С. 139-143. 3. Харина В.И., Бережнова Т.А., Резников К.М., Филин А.А. Дифференциальная термометрия при оценке фармакотерапии доксорубициновой кардиомиопатии в эксперименте. Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25. № 2. С. 135-141. 4. Коваленко И.В., Резников К.М. О возможности применения ионизированных жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом в офтальмологии. Современные проблемы науки и образования. 2018. № 3. С. 72.

5. Yukolova V., Yenkova Y., Polyakova N., **Reznikov K.M.** Prevention of hypotonic hemorrhage in high risk group of maternity patients during perioperative and postsurgical periods. Wiadomosci Lekarskie. 2018. T. 71. № 5. С. 960-965.

6. Колесниченко П.Д., Першина М.А., Горбунова Н.С., Солдатов В.О., **Резников К.М.**, Ксенофонтов А.О. Величина редокс-потенциала жидкостей при растворении в них лекарственных средств Биофармацевтический журнал. 2018. Т. 10. № 4. С. 46-50.

7. **Резников К.М.** Высокоэффективное, безопасное дезинфицирующее и антисептическое средство. В сборнике: Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии Материалы Международной конференции. Под редакцией Е.Л. Глориозова. 2017. С. 119-125.

Доктор медицинских наук
по специальности 14.03.06 – Фармакология,
клиническая фармакология, профессор
кафедры фармакологии
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»

 К.М. Резников

394036, Российская Федерация, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10
Тел. +7 (473) 2593805; 2530476; 2555753
Электронная почта: pharma@vsmaburdenko.ru

*Подпись К.М. Резникова заверено
Зам. нач. Отдела О.И. Ждановой*

