

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора кафедры фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», доцента, Пересыпкиной Анны Александровны на диссертационную работу Говоровой Юлии Александровны «Антигликирующие свойства производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина и их влияние на отдаленные нарушения структуры и функции глаза при экспериментальном сахарном диабете», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. – фармакология, клиническая фармакология в Диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Актуальность темы исследования

Согласно данным Росстата в стране, как и в мире, непрерывно растет распространенность сахарного диабета и его осложнений, в том числе и офтальмологических. Неферментативное гликирование длительно живущих белков (кристаллинов, гемоглобина, коллагена) вносит определяющий вклад в формирование поздних осложнений сахарного диабета. Гликирование кристаллинов хрусталика приводит к формированию в нем белковых агрегатов с высокой молекулярной массой, изменяет светопреломляющие и светопропускающие способности хрусталика, и запускает катарактогенез. Гликирование коллагена ретинальных сосудов, белков внеклеточного матрикса и белков мембран клеток крови приводит к нарушению гематоофтальмического барьера, инициируя развитие диабетической ретинопатии. При избыточном накоплении конечных продуктов гликирования (КПГ) активизируются нисходящие рецептор КПГ-опосредованные сигнальные пути и образуется патологическое количество фактора роста сосудистого эндотелия, который запускает неоваскуляризацию, что усугубляет течение ретинопатии, макулопатии и является причиной развития вторичной глаукомы.

Актуальные методы лечения офтальмологических осложнений сахарного диабета являются довольно радикальными и сопровождаются рядом ограничений, противопоказаний и осложнений (от воспалительных до дистрофических). Учитывая всё вышеперечисленное, поиск и изучение новых антигликирующих соединений, которые будут эффективными для профилактики и лечения поздних осложнений сахарного диабета, является перспективным направлением для научных исследований.

Диссертация Говоровой Юлии Александровны посвящена поиску активных антигликирующих соединений среди новых производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина, а также экспериментальному изучению влияния соединения-лидера на структуры и функции глаз на модели сахарного диабета 1 типа. Данная тематика является перспективным офтальмофармакологическим направлением и объясняет актуальность и научную целесообразность проведенного диссертационного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

При проведении диссертационного исследования автором использовался комплекс актуальных методов исследования, выполненных на высоком профессиональном уровне с корректной статистической обработкой результатов. Все данные, полученные при проведении

экспериментальной части работы, подвергнуты серьезному научному анализу. Основные данные и выводы, полученные при проведении экспериментальной части работы, изложены в виде научных статей, прошли рецензирование и опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Все положения, постулируемые автором, выводы, заключения и практические рекомендации обоснованы и логично вытекают из текста диссертации.

Научная и практическая значимость исследования

Впервые выполнено исследование антигликирующей активности и проведено изучение структуры-активности новых производных азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины (пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазины и триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазины). Выявлено соединение-лидер по антигликирующей активности – соединение под лабораторным шифром АВ-19 (натриевая соли диэтилового эфира 4-оксо-1,4-дигидропирозоло[5,1с]-1,2,4-триазин-3,8-дикарбоновой кислоты, моногидрат). Впервые для соединения АВ-19 получены экспериментальные данные о специфическом фармакологическом действии – способности данного соединения препятствовать развитию нарушений структуры и функции глаз при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете путем ингибирования развития катаракты (антикатарактальное действие), патологии сетчатки (нейроретинопротективное) и снижения уровня внутриглазного давления (офтальмогипотензивное), а также выявлены гемореологическая активности соединения АВ-19 (влияние на деформируемость эритроцитов), низкое токсическое действие и отсутствие местно-раздражающего действия. Таким образом, диссертационная работа Говоровой Ю.А. имеет высокую степень научной новизны.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

В работе доказана многофакторность позитивного влияния активного антигликирующего соединения АВ-19 на измененные структуры и функции глаза при сахарном диабете. Автором обоснована высокая перспективность дальнейшего углубленного изучения соединения АВ-19 в качестве нового фармакологического средства ингибирования развития глазных осложнений сахарного диабета.

Научно-практические данные, полученные при изучении антигликирующей активности новых производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазины, данные анализа зависимости «структура-активность» используются при синтезе новых соединений в ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». Новая экспериментальная методология по изучению антигликирующей активности веществ и их влиянию на измененные структуры и функции глаза при сахарном диабете применяется в работе Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Научные результаты, основные положения, выводы и заключения диссертационной работы Говоровой Ю.А. используются в лекционном курсе на кафедре фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ.

Соответствие диссертации паспорту специальности

В работе изучена зависимость антигликирующей активности новых производных азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины от их химической структуры, исследована концентрационная зависимость антигликирующей активности соединения АВ-19, его токсическое действие, рассчитана летальная доза соединения АВ-19, изучена специфическая фармакологическая активность соединения-лидера в экспериментальных условиях *in vivo* и *in vitro*, решается

актуальная задача фармакологии – поиск новых средств лечения и профилактики поздних глазных осложнений сахарного диабета.

Данная диссертационная работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология. – п.3 Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, п.4 Исследование зависимости «структура–активность» в различных классах фармакологических веществ. Целенаправленный синтез и скрининг фармакологических веществ, п.5 Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Содержание диссертационной работы резюмировано в автореферате, по результатам диссертации изложены и опубликованы в 11 научных работах, 4 из которых - в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени, также получен 1 патент на изобретение.

Содержание и оформление диссертации

Диссертационная работа изложена на 186 страницах машинописного текста, дополнена рисунками и таблицами. Диссертация имеет следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 5 глав собственных результатов исследований, обсуждение результатов, практические рекомендации, выводы из исследования, список литературы (содержит 432 источника: 366 иностранных и 66 отечественных). Диссертация оформлена в классическом стиле в соответствии с актуальными требованиями.

В первой главе (обзор литературы) выполнен анализ многочисленных литературных источников по теме диссертационного исследования. Также обзор литературы содержит подробное описание современных концепций этиологии и патогенеза диабетических ретинопатии, катаракты и глаукомы. Отдельный параграф посвящен процессу неферментативного гликирования долго живущих белков. Изложены современные подходы к лечению глазных осложнений сахарного диабета, обосновывается перспективность изучения антигликирующих соединений как средств для профилактики и лечения глазных заболеваний, ассоциированных с сахарным диабетом.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования. Используемые автором методы адекватны, и способствуют решению поставленных задач. Описаны методы статистической обработки результатов.

Третья глава содержит результаты произведенного скринингового исследования 12 новых производных азоло[5,1c]-1,2,4-триазина на уровень антигликирующей активности. Наиболее активными из исследованных соединений оказались производные пиразоло[5,1-c]-1,2,4-триазина. При этом установлено, что наличие этоксикарбонильной группы в С3 обеспечивает антигликирующие свойства для каждого ряда производных. Было определено соединение-лидер по антигликирующей активности под лабораторным шифром АВ-19, для которого были определены показатели полуингибирующей концентрации, острой токсичности и условного терапевтического индекса.

В четвертой главе изложены результаты исследования влияния изучаемого соединения на катарактогенез, офтальмогипертензию и ретинопатию у крыс со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом. По данным лабораторных, гистологических, офтальмологических (рутинных и функциональных) методов исследования показано, что соединение АВ-19 проявляет ряд эффектов: антикатарактальный, нейроретинопротективный и офтальмогипотензивный.

В пятой главе представлены результаты изучения гемореологической активности соединения АВ-19, а именно его влияния на индекс элонгации эритроцитов в эксперименте *in vivo* и *in vitro*. Показано, что изучаемое соединение АВ-19 в большей степени повышает деформируемость эритроцитов в условиях интенсифицированного гликирования, чем аминогуанидин.

В шестой главе показано, что у изучаемого соединения в 0,2% и 2% концентрациях отсутствует местно-раздражающее действие на глазную поверхность.

Седьмая глава содержит данные, полученные при изучении нейротоксикологических свойств соединения АВ-19. Произведен расчет минимальной токсической дозы изучаемого соединения. Соединение АВ-19 обладает низким токсическим действием на поведение лабораторных животных.

В восьмой главе (обсуждение результатов) выполнен критический анализ результатов проведенных исследований, выявлены определенные закономерности, которые согласуются с опубликованными научными данными, обоснована перспективность дальнейшего доклинического изучения соединения АВ-19 в качестве эффективного средства фармакологической коррекции офтальмопатологии, ассоциированной с сахарным диабетом.

Диссертационная работа завершается выводами и практическими рекомендациями, отвечают поставленным автором цели и задачам, обоснованы результатами проведенных исследований, имеют научно-практическую значимость.

Автореферат полностью отражает суть и основные положения диссертационного исследования, оформлен в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. При рецензировании диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного уточнения, но носящие дискуссионный характер и не затрагивающие существа работы:

1. В качестве препарата сравнения в исследовании использовался аминогуанидин, который не применяется в настоящее время в клинической практике. Чем продиктован такой выбор препарата сравнения? Почему не был выбран один из препаратов, применяемых в лечении сахарного диабета и его осложнений?

2. По результатам исследования прослеживается прямая связь между накоплением конечных продуктов гликирования и карбоксиметиллизина в хрусталиках и стадией развития катаракты. Можно ли считать, что неферментативное гликирование – основной патогенетический путь катарактогенеза?

3. Если изучаемое соединение АВ-19 пройдет все стадии доклинического исследования, то какими в перспективе могут быть потенциальные показания для его применения в офтальмологии? Это перспективный препарат для лечения или профилактики осложнений сахарного диабета?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер, не затрагивают суть работы и не снижают ее научную ценность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Говоровой Юлии Александровны «Антигликирующие свойства производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина и их влияние на отдаленные нарушения структуры и функции глаза при экспериментальном сахарном диабете», представленное на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной и полноценной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи фармакологии, а именно - поиск химических соединений, высоко перспективных в качестве новых лекарственных средств для профилактики и коррекции офтальмологических осложнений сахарного диабета.

Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология. Актуальность, научная новизна и научно-практическая значимость работы соответствуют всем требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства РФ №101 от 26.01.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология, а ее автор Говорова Ю.А. достоин присуждения искомой научной степени.

Профессор кафедры фармакологии
и клинической фармакологии
Белгородского государственного национального
исследовательского университета,
доктор биологических наук,
доцент

Пересыпкина Анна Александровна

«15» мая 2023 г.

Даю согласие на обработку персональных данных.

Подпись Пересыпкиной А.А. заверяю:



Адрес: 308015, Белгород, улица Победы, 85, корп. 12, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Электронная почта: Info@bsu.edu.ru

Телефон: 8 (4722) 30-18-80; 8 (4722) 30-12-11

Официальный сайт: <https://bsuedu.ru/bsu/>

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

по диссертации Говоровой Юлии Александровны «Антигликирующие свойства производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина и их влияние на отдаленные нарушения структуры и функции глаза при экспериментальном сахарном диабете» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология

ФИО оппонента	Пересыпкина Анна Александровна
Ученая степень	Доктор биологических наук
Шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация	3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология
Ученое звание (по специальности, кафедре)	Доцент
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Занимаемая должность	Профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Почтовый индекс, адрес	308015, Белгород, улица Победы, 85, корп. 12
Телефон	+7 (4722) 30-18-80, +7 (4722) 30-12-11
Адрес электронной почты	Info@bsu.edu.ru
Список основных публикаций оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	1. Пересыпкина Анна Александровна, Покровский М.В., Губарева В.О., Левкова Е.А. Коррекция гипертензивной нейроретинопатии производным диметиламиноэтанола 7-16 в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. №1. УДК: 57.084.1; 2. Пересыпкина, М.В. Покровский, В.О. Губарева, Должиков А.А. Протективные эффекты карбамилированного дарбэпоэтина на модели ишемической нейропатии зрительного нерва // Экспериментальная клиническая фармакология. - 2018. - Т. 81. - №7. - С. 8-13. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-8-13;

3. Пересыпкина А.А., Покровский М.В., Должиков А.А., Левкова Е.А., Победа А.С. Коррекция экспериментальной ишемической нейропатии зрительного нерва агонистом имидазолиновых рецепторов типов I и II // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – №4. – С. 12–17. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-4-12-17;
4. Peresyupkina A., Pzhinsky A., Danilenko L., Lugovskoy S., Pokrovskii M., Beskhmel'nitsyna E., Solovev N., Pobeda A., Korokin M., Levkova E., Gubareva V., Korokina L., Martynova O., Soldatov V., Pokrovskii V. Retinoprotective Effect of 2-Ethyl-3-hydroxy-6-methylpyridine Nicotinate // Biology (Basel). 2020. Vol. 9. No.3. P. 45. DOI: 10.3390/biology9030045;
5. Структуры глимфатического транспорта глаза, зрительного нерва и головного мозга при моделировании ишемии-реперфузии сетчатки у крыс / А. А. Должиков, А. А. Пересыпкина, А. С. Победа [и др.] // Modern Science. – 2020. – № 6-4;
6. Морфологические изменения ресничного тела, его микроциркуляторного русла и увеолимфатических структур глаза при моделировании ишемической нейропатии зрительного нерва у крыс / А. А. Должиков, А. А. Пересыпкина, А. С. Победа [и др.] // Достижения современной морфологии - практической медицине и образованию : Сборник научных статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета, 120-летию со дня рождения профессора К.С. Богоявленского, 100-летию со дня рождения профессора Д.А. Сигалевича, 100-летию со дня рождения профессора З.Н. Горбачевич, Курск, 21–23 мая 2020 года / Под редакцией В.А. Лазаренко. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2020. – С. 197-204;
7. Патент № 2750966 С1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61K 38/18,

А61Р 27/02. Способ коррекции микроциркуляторных нарушений сетчатки низкосиалированным эритропозтином: № 2021104222: заявл. 19.02.2021: опубл. 07.07.2021 / К. В. Щуровская, А. С. Победа, М. В. Покровский [и др.];

8. Патент № 2762892 С1 Российская Федерация, МПК А61К 38/18, А61Р 9/10. Способ коррекции микроциркуляторных нарушений сетчатки асиалированным эритропозтином: № 2021104083: заявл. 18.02.2021: опубл. 23.12.2021 / К. В. Щуровская, А. С. Победа, М. В. Покровский [и др.];

9. Патент № 2765675 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28, А61К 31/137, А61Р 27/02. Способ профилактики эксайтотоксического повреждения сетчатки производным диметиламиноэтанола в эксперименте: № 2021118071: заявл. 22.06.2021: опубл. 01.02.2022 / А. С. Победа, М. В. Покровский, Н. В. Соловьев [и др.];


10. Патент № 2782497 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/197, А61Р 27/02, G09В 23/28. Способ коррекции нейрональных повреждений сетчатки производным диметиламиноэтанола в эксперименте: № 2022104307: заявл. 18.02.2022: опубл. 28.10.2022 / А. С. Победа, Н. В. Соловьев, С. Я. Скачилова [и др.];

11. Ретинопротекторный эффект 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридин-N-ацетилтаурината при NMDA-опосредованной эксайтотоксичности в сетчатке / С. С. Черняева, С. В. Ефименко, А. С. Победа [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2022. – Т. 85. – № 11. – С. 3-8. – DOI 10.30906/0869-2092-2022-85-11-3-8;

12. Электроретинография в оценке нейропротекторного эффекта на модели экспериментальной глаукомы / А. В. Калатанова, А. С. Победа, Д. А. Абашева [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2021. – Т. 137. – № 3. – С. 86-92. – DOI 10.17116/oftalma202113703186;

	13. Патент № 2784350 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/44, А61Р 27/02, G09В 23/28. Способ коррекции микроциркуляторных нарушений 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 5-гидрокси-3-пиридинокарбоноатом при экспериментальной NMDA-опосредованной эксайтотоксичности в сетчатке: № 2022110058: заявл. 14.04.2022: опубл. 23.11.2022 / Н. В. Соловьев, А. С. Победа, С. Я. Скачилова [и др.].
--	--

Доктор биологических наук
по специальности 3.3.6. – Фармакология,
клиническая фармакология;
Профессор кафедры фармакологии
и клинической фармакологии федерального
государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»

 Пересыпкина Анна Александровна

«20» 03 2023 г.

Подпись доктора биологических наук, доцента Пересыпкиной Анны Александровны «заверяю».

308015, Белгород, улица Победы, 85, корп. 12
Тел.: +7 (4722) 30-18-80,
+7 (4722) 30-12-11
Адрес электронной почты: info@bsu.edu.ru

Личную подпись удостоверяю Ведущий специалист по кадрам департамента управления персоналом	
	  «20» 03 2023 г.