

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, заведующего отделом нейрофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана, профессора кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России Соколова Алексея Юрьевича 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

Актуальность темы исследования определяется высокой распространенностью сахарного диабета (СД), клинические последствия и осложнения которого связаны с развитием макро- и микроангиопатии, нейропатии, нейроостеоартропатии, инфекционных процессов и ухудшением регенерации тканей. На фоне высокого уровня гликемии одним из основных патогенетических механизмов формирования указанных изменений является неферментативное гликирование белков, что происходит, в т.ч. и в тканях глаза, и является важнейшей причиной нарушения зрения, вплоть до полной слепоты. В частности, прогрессирующее накопление конечных продуктов гликирования (КПГ) в хрусталике существенно снижает его оптические свойства, приводя к развитию катаракты. Поражение белков сосудистой стенки и эритроцитов приводит к ухудшению реологии крови, тромбозам и формированию зон ишемии в сетчатке. Рецептор-опосредованное влияние КПГ вызывает избыточное образование фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), следствием чего является развитие пролиферативной диабетической ретинопатии и, возможно, неоваскулярной глаукомы.

На фоне отсутствия эффективных фармакологических способов коррекции офтальмологических осложнений СД существующие на сегодняшний день методы их лечения являются главным образом инвазивными, имеют ряд ограничений и могут сопровождаться тяжелыми последствиями. В связи с этим разработка новых ангигликирующих препаратов, ингибирующих реакцию неферментативного гликирования

и способных отсрочить или предотвратить развитие диабетического поражения глаз, является весьма перспективным научным направлением.

Диссертация Говоровой Ю. А. посвящена изучению антигликирующей активности новых производных азоло[5,1-с]-1,2,4-триазина и оценке влияния одного из их представителей – субстанции АВ-19 - на измененные структуры и функции глаза при экспериментальном СД 1 типа, что с учетом сказанного выше обуславливает высокую актуальность проведенной работы.

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

Достаточный объем данных, полученных с использованием адекватных методов проведения эксперимента, их глубокий анализ, подробное описание и корректная статистическая обработка позволяют квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

Научная новизна и практическая значимость исследования.

Впервые выполнено исследование антигликирующих свойств и проведено изучение зависимости «структура-активность» новых производных азоло[5,1-с]-1,2,4-триазина, в ходе чего было выявлено соединение-лидер 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). В серии опытов на животных с использованием модели стрептозотоцин-индуцированного СД впервые получены данные о специфическом фармакологическом действии АВ-19, а именно, способности препятствовать развитию структурно-функциональных нарушений глаза. Указанное действие реализуется путем ингибирования катарактогенеза, торможения развития ретинопатии и снижения уровня внутриглазного давления. Кроме этого, для соединения АВ-19 были впервые продемонстрированы позитивная гемореологическая активность (повышение деформируемости эритроцитов), низкое общетоксическое действие и отсутствие местно-раздражающего эффекта на конъюнктиву. Таким образом, диссертационная работа Говоровой Ю.А. имеет высокую степень научной новизны, а полученные результаты могут служить веским основанием для дальнейшего изучения вещества АВ-19 уже в рамках клинических исследований.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Новые производные пиразоло[5,1с]-1,2,4-триазина являются перспективным классом для поиска соединений с антигликирующей активностью. Соединение АВ-19 является потенциальной основой для разработки нового лекарственного средства для коррекции глазных осложнений сахарного диабета.

Полученные научные данные по антигликирующей активности новых производных пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина и влияние на ее уровень положения различных заместителей в гетероцикле используются при синтезе новых веществ в ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». Инновационный подход к изучению антигликирующих свойств соединений применяется в исследовательской работе Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета». Научные результаты диссертационного исследования используются в лекционном курсе на кафедре фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета»

Соответствие диссертации паспорту специальности

Учитывая поставленные цели, задачи, область и актуальный для фармакологии предмет исследования, используемую современную и обоснованную методологию, полученные выводы и практические рекомендации, вытекающие из работы, считаю, что представленная диссертация полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология по следующим направлениям: 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» и 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

По теме исследования опубликовано 11 работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; получен 1 патент на изобретение. Основные положения диссертации неоднократно докладывались на различных научных мероприятиях, в т.ч. с международным участием.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация оформлена в классическом стиле в соответствии с существующими требованиями и изложена на 186 страницах печатного текста, иллюстрированного рисунками и таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, раздела с описанием материалов и методов исследования, 5 глав собственных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает в себя 432 источника, из них 366 иностранных и 66 отечественных. Стоит отметить не только общий объем, но и впечатляющую «хронологическую широту» поиска литературы: с середины 80-х гг. прошлого века по наши дни.

В первой главе проведен обзор и анализ литературных данных по теме диссертации. Представлено описание основных патогенетических путей развития офтальмологических осложнений СД, включая процесс неферментативного гликирования, представлены современные подходы к лечению и обозначено место антигликирующих соединений в фармакологической коррекции диабетической ретинопатии, катаракты и глаукомы.

Во второй главе подробно описаны материалы и методы проведенных исследований. Уместно отметить, что использованные автором методические подходы крайне разнообразны и адекватны поставленным задачам, что способствовало их успешному решению. В конце главы обозначены методы статистической обработки данных.

В третьей главе представлены результаты проведенного скрининга производных азоло[5,1с]-1,2,4-триазина на выраженность антигликирующих свойств. Наиболее активными из исследованных соединений оказались производные пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазина, среди которых вещество под лабораторным шифром АВ-19 проявило максимальную антигликирующую способность. Было продемонстрировано, что АВ-19 превосходит препарат сравнения амингуанидин не только по степени подавления гликирования альбумина, но и по показателям концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀), острой токсичности (LD₅₀) и условного терапевтического индекса. Подструктурный анализ влияния типа ядра показал, что высокая антигликирующая

эффективность АВ-19 определяется наличием этоксикарбонильных заместителей в положениях С3 и С8.

В четвертой – наиболее объемной - главе представлены результаты оценки влияния АВ-19 на развитие катаракты, ретинопатии и повышения уровня внутриглазного давления у лабораторных животных со стрептозотоцин-индуцированным СД. В ходе проведенных биомикроскопических, морфологических, иммуногистохимических, электрофизиологических, а также тензо- и флоуметрических исследований было выявлено, что соединение АВ-19 тормозит диабетический катарактогенез, улучшает по сравнению с контрольной группой нелеченных животных показатели электроретинограммы и офтальмомикрогемоперфузии, приводит к уменьшению апоптоза ганглиозных клеток сетчатки и накопления КПП и карбоксиметиллизина в хрусталиках, а также снижает уровень внутриглазного давления. По всем исследуемым показателям вещество АВ-19, как минимум, не уступало препарату сравнения амингуанидину.

В пятой главе представлены итоги изучения влияния АВ-19 на деформируемость эритроцитов *in vivo* (крысы со стрептозотоцин-индуцированным СД) и *in vitro* (инкубированные с глиоксалем эритроциты) в сравнении с амингуанидином. В обоих случаях АВ-19 частично восстанавливал сниженный индекс удлинения эритроцитов, что указывает на повышение их пластичности, при этом позитивный эффект вещества был сопоставим с таковым контрольного препарата.

В шестой главе изложены результаты оценки местно-раздражающего действия АВ-19 при однократном нанесении на конъюнктиву морских свинок в двух концентрациях: 0,2% и 2%, из которых первая эквивалентна средней эффективной дозе при системном назначении. Было выявлено, что исследуемое соединение не обладает локальным раздражающим эффектом.

В седьмой главе содержатся результаты исследования нейротоксикологического профиля соединения АВ-19 по методу S. Irwin с расчетом минимальной токсической дозы. Было продемонстрировано отсутствие значимых нежелательных эффектов АВ-19 в дозах 20 и 100 мг/кг, и только при увеличении дозы более 400 мг/кг у животных развивались седация, тахипноэ, гипотермия и снижение скорости нервно-мышечной передачи.

В восьмой главе автор анализирует полученные результаты с учетом данных литературы и обосновывает целесообразность дальнейшего изучения антигликирующего соединения АВ-19 в качестве перспективного средства фармакологической коррекции офтальмологических осложнений СД.

Диссертация завершается выводами и практическими рекомендациями, которые логично вытекают из результатов работы, отражают поставленные задачи, аргументированы и имеют научно-практическую значимость.

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Принципиальных претензий к диссертационной работе нет, однако в ходе ознакомления с ней возникли следующие комментарии, вопросы и замечания:

1. Если АВ-19 позиционируется как препарат-кандидат для потенциального лечения офтальмоосложнений СД и исследуется именно в этом ключе, почему был выбран системный способ его назначения («...*внутрижелудочно ...посредством атравматического металлического зонда...*»)? И это при том, что местное применение АВ-19 принципиально возможно и даже не вызывает раздражения конъюнктивы, как описано в 6 главе.

2. Статистика: при указании степени значимости различий корректно указывать точное значение P , а не банальное $P < 0,05$. При использовании критерия Манна-Уитни-Вилкоксона необходимо указывать значение U , этого нигде нет в тексте диссертации.

3. Какой по мнению диссертанта может быть механизм реализации офтальмогипотензивного эффекта АВ-19?

Следует подчеркнуть, что высказанное замечание и заданные вопросы носят дискуссионный характер, не затрагивают суть работы и не снижают её научную ценность. Поскольку полученные результаты могут представлять интерес не только для российских ученых, автору стоит задуматься о публикациях в зарубежных научных изданиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация 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» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение

актуальной задачи фармакологии, направленной на поиск перспективных веществ для лекарственной коррекции поздних осложнений сахарного диабета.

Учитывая актуальность и высокий методический уровень, научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования считаю, что представленная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 (в редакции Постановления Правительства РФ №101 от 26.01.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Говорова Юлия Александровна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Заведующий отделом нейрофармакологии

Института фармакологии

им. А.В. Вальдмана,

профессор кафедры фармакологии

ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова

Минздрава России,

доктор медицинских наук,

доцент

Соколов Алексей Юрьевич

«16» мая 2023 г.

Даю согласие на обработку персональных данных

Подпись Соколова А.Ю. заверяю:



Адрес: 197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Электронная почта: info@lspbmgmu.ru

Телефон: 8 (812) 338-78-95

Официальный сайт: <https://www.lspbmgmu.ru>

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	Соколов Алексей Юрьевич
Ученая степень	Доктор медицинских наук
Шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация	03.03.01 – Физиология 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология
Ученое звание (по специальности, кафедре)	Доцент по специальности «Фармакология, клиническая фармакология»
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Занимаемая должность	Заведующий отделом нейрофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Почтовый индекс, адрес	197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
Телефон	+7(812)338-67-52
Адрес электронной почты	alexey.y.sokolov@gmail.com
Список основных публикаций оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	1. Dolgorukova A, Potapenko AV, Murzina AA, Lyubashina OA, Sokolov A. Y. The implementation of transcranial Doppler ultrasonography for preclinical study of migraine. Can J Physiol Pharmacol. 2022 Jun 1;100(6):553-561. doi: 10.1139/cjpp-2021-0626. Epub 2022 Apr 12. PMID: 35413217. 2. A. Y. Sokolov, A. V. Osipchuk, I. B. Skiba, A. V. Amelin. The Role of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide and Vasoactive Intestinal Peptide in Migraine Pathogenesis. Neurochemical Journal, 2022, Vol. 16, No. 1, pp. 31–38. DOI: 10.1134/S1819712422010123 3. Volynsky MA, Mamontov OV, Osipchuk AV, Zaytsev VV, Sokolov AY, Kamshilin AA. Study of cerebrovascular reactivity to hypercapnia by imaging photoplethysmography to develop a method for intraoperative assessment of the brain functional reserve.

Biomed Opt Express. 2021 Dec 7;13(1):184-196. doi: 10.1364/BOE.443477. PMID: 35154863; PMCID: PMC8803018.

4. **Sokolov AY**, Volynsky MA, Zaytsev VV, Osipchuk AV, Kamshilin AA. Advantages of imaging photoplethysmography for migraine modeling: new optical markers of trigemino-vascular activation in rats. J Headache Pain. 2021 Apr 1;22(1):18. doi: 10.1186/s10194-021-01226-6. PMID: 33794769.

5. Dolgorukova A, Isaeva JE, Verbitskaya E, Lyubashina OA, Giniatullin RA, **Sokolov AY**. Differential effects of the Piezo1 agonist Yoda1 in the trigeminovascular system: An electrophysiological and intravital microscopy study in rats. Exp Neurol. 2021 Feb 5; 339:113634. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113634. Epub ahead of print. PMID: 33549548.

6. Mamontov OV, **Sokolov AY**, Volynsky MA, Osipchuk AV, Zaytsev VV, Romashko RV, Kamshilin AA. Animal model of assessing cerebrovascular functional reserve by imaging photoplethysmography. Sci Rep. 2020 Nov 4;10(1):19008. doi: 10.1038/s41598-020-75824-w. PMID: 33149189; PMCID: PMC7642404.

7. Оценка кровоснабжения мозга через интактный череп с использованием визуализирующей фотоплетизмографии / М. А. Волинский, А. Ю. **Соколов**, Н. Б. Маргарянц [и др.] // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. – 2021. – Т. 21, № 5. – С. 795-800. – DOI 10.17586/2226-1494-2021-21-5-795-800;

8. Электрофизиологическая модель тригеминоваскулярной ноцицепции как инструмент экспериментального изучения фармакотерапии мигрени / А. Н. Долгорукова, А. Ю. **Соколов** // Российский журнал боли. – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 31-38. – DOI 10.17116/pain20211903131;

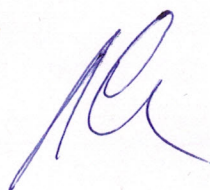
9. Пятилетний опыт применения нового класса препаратов для таргетной профилактической терапии мигрени / А. В. Амелин, А. Ю. **Соколов**, Ю. С. Ваганова // Российский неврологический журнал. – 2021. – Т. 26, № 3. – С. 4-14. – DOI 10.30629/2658-7947-2021-26-3-4-14;

10. Dolgorukova A., Osipchuk A.A., Murzina A.A., **Sokolov A.Y.** / The influence of metoclopramide on trigeminovascular nociception: possible anti-migraine mechanism of action // Neuroscience 425 (2020) 123–133 doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.11.026.

11. Lyubashina OA, Sivachenko IB, **Sokolov AY**. Differential responses of neurons in the rat caudal ventrolateral medulla to visceral and somatic noxious stimuli and their alterations in colitis. Brain Res Bull. 2019 Oct; 152:299-310. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.07.030. Epub 2019 Aug 1. PMID: 31377442.

	12. Периферическая нейростимуляция в терапии головных болей / А. Ю. Соколов, О. А. Любашина, Ю. С. Ваганова, А. В. Амелин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 10. – С. 79-88. – DOI 10.17116/jnevro201911910179. 13. Ю.С. Ваганова, А.В. Амелин, А.А. Готовчиков, А.А. Тимофеева, П.А. Ляшок, А.Ю. Соколов “Клинические особенности пациентов с лекарственно-индуцированной головной болью” Российский журнал боли 2019, т. 17, No 3, с. 22-28 https://doi.org/10.25731/RASP.2019.03.28
--	--

Заведующий отделом нейрфармакологии
Института фармакологии им. А.В. Вальдмана,
профессор кафедры фармакологии
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова
Минздрава России,
доктор медицинских наук



Соколов Алексей Юрьевич

«22» марта 2023 г.

Подпись Соколова Алексея Юрьевича заверяю:



197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8,
Тел.: +7(812)338-67-52
Адрес электронной почты: alexey.y.sokolov@gmail.com