

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Калениковой Елены Игоревны на диссертацию Мирошниченко Кирилла Александровича на тему «Церебропротекторное действие новых сульфопроизводных пиримидин-4(1н)-она в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы исследования

Рецензируемая работа посвящена изучению церебропротекторной активности новых производных пиримидин-4(1н)-она и эффективности в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ). В качестве фармакологических мишеней выбраны эндотелий сосудов и митохондрии клеток головного мозга. Воздействие на данные структуры, согласно исследованиям последних лет, целесообразно использовать для терапии нейродегенеративных заболеваний. Выбранное направление исследования относится к глобальным проблемам фармакологии, поскольку затрагивает терапию социально значимого заболевания, при этом разнообразие имеющихся церебропротекторных препаратов не позволяет, к сожалению, обеспечить все необходимые потребности практической медицины. Исследуемый класс соединений является перспективным с целью поиска и разработки эффективного средства церебропротекторного действия для лечения ХТЭ, так как производные пиримидина обладают комплексом фармакологических активностей, в том числе нейропротекторной и эндотелиопротекторной. По своей сути работа представляет

собой фундаментальный труд, направленный на решение важных задач практической медицины. Диссертация построена на современной концепции развития ХТЭ, использованы адекватные модели, характеризующие возможность применения соединений для коррекции течения ХТЭ.

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, научной базе, уделяющей много внимания решению фундаментальных и прикладных проблем биомедицинской науки, что лишний раз подтверждает значимость проведенной работы.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

В ходе экспериментальной работы применялись современные и комплексные методы для оценки церебропротекторной активности в условиях экспериментальной ХТЭ, с учетом сложности и многогранности патогенеза. Представленный объем экспериментальных данных, их корректная обработка, четкое описание и анализ позволяют квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации обоснованными.

Теоретическая и научно-практическая значимость

Теоретическая значимость представленной работы заключается в обосновании поиска среди производных пиримидин-4(1H)-она веществ, обладающих церебропротекторным действием. Выявлено наличие церебротропной активности данного класса соединений, что позволяет расширить возможности дизайна лекарственных средств для терапии ХТЭ. Практическое значение состоит в экспериментальном поиске веществ с заданной активностью и углубленном изучении фармакологической активности соединения-лидера. В работе показано наличие церебропротекторного эффекта у нового производного пиримидин-4(1H)-она под лабораторным шифром Sub1, проявляемого в виде сохранения функций митохондрий клеток и эндотелия сосудов головного мозга. Полученные данные указывают на целесообразность дальнейшего изучения соединения Sub1 для создания на его основе церебропротекторного лекарственного препарата для профилактики и лечения ХТЭ.

Полученные данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение.

Структура и оформление работы

Работа изложена на 154 страницах машинописного текста, иллюстрирована 33 рисунками и 8 таблицами. Построение диссертации классическое в соответствии с существующими требованиями. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, четырех глав, описывающих собственные результаты автора, главы обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и литературы. Литературный указатель содержит 44 отечественных и 189 зарубежных источников. Диссертация прекрасно оформлена, написана хорошим литературным языком и легко читается.

В первой главе описано современное состояние исследований хронической травматической энцефалопатии, включающее этиологию, патогенез, клинические проявления, существующую терапию. Обозначаются потенциальные терапевтические мишени для воздействия новыми производными пиримидин-4(1н)-она, на основе установленного спектра их фармакологических активностей.

Во 2 главе представлены материалы и методы исследования. Автором использован комплексный подход к изучению с использованием современных методов анализа. Применен широкий спектр биохимических и иммуноферментных методик определения. При воспроизведении ХТЭ использовали две методики моделирования, позволяющие оценить звенья патогенеза. Примененные методы адекватны поставленным задачам диссертации. Количество животных, использованных в экспериментах, позволяет получить достоверные результаты. Проведена статистическая обработка результатов.

Материалы собственных исследований представлены в главах 3, 4, 5, 6.

В третьей главе приведено описание фармакологического скрининга 10 новых производных пиримидин-4(1н)-она посредством оценки степени влияния на проявления и течение ХТЭ. В ходе скрининга установлены различные по выраженности фармакологические эффекты исследуемых веществ. Выявлено соединение-лидер под лабораторным шифром Sub1, которое, исходя из

совокупности полученных результатов, обладает наиболее выраженным церебропротекторным действием, в виде сохранения когнитивных, сенсомоторных функции у крыс, поддержания метаболизма на физиологическом уровне и снижения нейродеструкции в условиях экспериментальной ХТЭ.

В четвертой главе описана оценка «острой» токсичности выявленного соединения лидера Sub1. Так, при использовании метода «Up and Down» установлено, что Sub1 относится к пятому классу токсичности. Также в данной главе представлены результаты изучения эффективности вещества-лидера в интервале доз. Среди дозировок 25 мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг наиболее выраженный эффект наблюдался при применении дозы 100 мг/кг, что выражалось в большем снижении концентрации маркеров нейродеградации, характерных для ХТЭ, относительно других исследуемых дозировок.

В пятой главе отражены результаты углубленного изучения церебропротекторного действия соединения лидера. Приведены результаты исследования отсроченного эффекта применения соединения-лидера на течение ХТЭ спустя 60 дней после моделирования и фармакотерапии. Установлено наличие церебропротекторного эффекта Sub1, который выражался в сохранении когнитивных функций у крыс, о чем свидетельствуют результаты теста «условный рефлекс пассивного избегания». Также установлено дифференциальное расположение маркеров нейродеградации в условиях моделируемой ХТЭ и снижение концентрации тау-белка и β -амилоида как в коре больших полушарий, так и в гиппокампе на фоне введения Sub1. Вместе с тем, оценена степень воздействия соединения-лидера на течение хронической травматической энцефалопатии в модели «Blast wave». Так, определено состояние неврологических функций в условиях ХТЭ, показывающее сохранение последних при применении Sub1. В то же время установлено снижение деструкции клеток головного мозга при введении соединения-лидера в качестве фармакологической поддержки, о чем свидетельствует сокращение концентрации маркеров нейродеградации.

В шестой главе описаны потенциальные механизмы церебротропного действия соединения-лидера, проявляющегося в виде сохранения функций

митохондрий клеток и эндотелия сосудов головного мозга, позволяющие нивелировать проявления ХТЭ. Так, отмечена нормализация работы митохондрий в условиях патологии, выражающаяся в повышении АТФ-генерирующей активности и снижении интенсивности гликолиза при введении Sub1. Показано сохранение активности функций эндотелия сосудов головного мозга на фоне введения соединения лидера, что наблюдалось в виде повышения скорости церебрального кровотока, адекватной сосудистой реакции при инстилляции эндотелий-специфических анализаторов. Вместе с тем установлено сохранение антитромботической функции эндотелия и физиологического состояния коагуляционного компонента гемостаза. Вышесказанное способствует снижению индукции процессов, запускающих апоптоз, о чем свидетельствует сокращение концентрации главного эффектора апоптоза.

В седьмой главе приведено подробное и последовательное обсуждение результатов проведенного исследования. Анализ полученных данных по значительному числу патогенетически обоснованных показателей позволил автору сделать вывод, что соединение-лидер Sub1 обладает выраженным церебропротекторным действием, которое по активности находится на уровне или превосходит препараты сравнения. По результатам обсуждения, как итог исследовательской работы, автором предлагается в виде схемы вероятный механизм нивелирования соединением Sub1 клинических проявлений ХТЭ.

Диссертация завершается 6 выводами и 2 пунктами практических рекомендаций. Все выводы и практические рекомендации вытекают из основного содержания работы и логично сформулированы. Научные положения, выводы и заключения диссертанта обоснованы и не вызывают сомнений.

Статистика

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Используемые статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты: данные исследованы на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка; при подчинении данных закону нормального распределения для сравнения групп средних

применены параметрические методы - ANOVA с пост-обработкой Ньюмена-Кейсла; в случае неподчинения были использованы методы непараметрической статистики (критерий Краскелла-Уоллиса).

Публикации

Основное содержание диссертационной работы отражено в 14 публикациях, из них 6 статей – в журналах, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени; 5 в журналах, включенных в базы данных Scopus и Web of Science; получен 1 патент на изобретение РФ и оформлена 1 база данных.

Автореферат

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Диссертация изложена логично, хорошим научным языком, прекрасно иллюстрирована. Выводы и заключения, сделанные соискателем, не вызывают сомнений. В качестве замечаний могу отметить, что:

1. в тексте не представлено обоснование выбора препаратов сравнения;
2. заключения, приведенные автором в конце каждой из экспериментальных глав диссертации, лучше было бы назвать выводами по главе, так как заключение в диссертации должно быть одно, и оно у соискателя есть на стр. 110;
3. присутствуют единичные опечатки и неудачные выражения (стр. 56 «...влияние исследуемых соединений на концентрацию ... биохимических показателей...»).

В ходе рецензирования диссертации возникли вопросы, вызванные искренним интересом к представленным данным и требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

1. Почему в главе 3 в скрининговом исследовании влияния ряда веществ на течение ХТЭ изучали многие маркеры нейродегенерации, кроме главного

- тау-белка? Не достаточно ли было на этапе скрининга, для экономии средств и времени, оценить уровень только этого главного маркера, а уже при углубленном исследовании эффектов соединения-лидера расширить круг оцениваемых проявлений нейропатологии (глава 5)?
2. В диссертации соискатель называет действие Sub 1 церебропротекторным. Так как термина «cerebroprotector» в классификации РЛС нет, к какой фармакологической группе можно будет отнести препарат на основе Sub 1 с учетом выявленного спектра его эффектов?

Заключение

Диссертационная работа Мирошниченко Кирилла Александровича на тему «Церебропротекторное действие новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии», выполненная под научным руководством заведующего кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, доцента, доктора медицинских наук Черникова Максима Валентиновича и представленная к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является завершённой, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области экспериментальной фармакологии, состоящей в поиске средства с церебропротекторной активностью для терапии ХТЭ. Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 5 «Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток»). Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяет утверждать, что данная работа соответствует требованиям п. 9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября

2013 г. № 842, о порядке присуждения ученых степеней кандидата фармацевтических наук, а ее автор, Мирошниченко Кирилл Александрович, по своей эрудиции, компетенциям, научному и практическому опыту достоин присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент
заведующий кафедрой
фармацевтической химии,
фармакогнозии и организации
фармацевтического дела факультета
фундаментальной медицины ФГБОУ ВО
«Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
доктор фармацевтических наук,
профессор

Каленикова Елена Игоревна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1

Тел: +7 (495) 939-10-00, E-mail: info@rector.msu.ru

www.msu.ru

« 03 » февраля 2023 года

Подпись Е.И. Калениковой подтверждаю
Декан Факультета фундаментальной медицины
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова»
Академик РАН



Всёволод Арсеньевич Ткачук

Председателю диссертационного
Совета 21.2.005.02
на базе Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Волгоградский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ
Академику РАН, д.м.н., профессору
В.И. Петрову
(400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1)

СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Каленикова Елена Игоревна, доктор фармацевтических наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Мирошниченко Кирилла Александровича «Церебропротекторное действие новых сульфопроизводных пиримидин-4(1н)-она в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты проинформирована.

«04» декабря 2022г.



Подпись

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Елены Игоревны Калениковой подтверждаю

Декан
Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
Академик РАН
119192, Москва, Ломоносовский пр., д. 27, корп.
Тел.: +7 (495) 932-88-14
E-mail: info@fbm.msu.ru



Председателю диссертационного
Совета 21.2.005.02
на базе Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Волгоградский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ
Академику РАН, д.м.н., профессору
В.И. Петрову
(400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1)

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Мирошниченко Кирилла Александровича на тему
«Церебропротекторное действие новых сульфопроизводных пиримидин-
4(1H)-она в условиях экспериментальной хронической травматической
энцефалопатии», представленной на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая
фармакология

Фамилия, имя, отчество официального оппонента	Каленикова Елена Игоревна
Ученая степень	доктор фармацевтических наук
Шифр и наименования специальностей, по которым защищена диссертация	14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.
Ученое звание	профессор
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Занимаемая должность	Заведующий кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела Факультета

	фундаментальной медицины
Почтовый адрес	119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, д.27, корп. 1
Телефон	+7 (495) 932-88-14
Адрес электронной почты	ekaleni@fbm.msu.ru
Список основных публикаций официального оппонента, близких к теме рецензируемой диссертационной работы	<ol style="list-style-type: none"> 1. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Медведев О.С. / Роль и возможности антиоксидантной терапии ишемического инсульта // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2022. – Т. 85. – № 8. – С. 34-39. 2. Оболенская О.Н., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. / Нейропротекторный потенциал убихинола после внутривенного введения на модели фокальной ишемии головного мозга у крыс // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. – 2020. – С. 127. 3. Obolenskaya O.N., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Belousova M.A., Gulyaev M.V., Makarov V.G., Pirogov Yu. A., Medvedev O.S. / Intravenous administration of Coenzyme Q10 in acute period of cerebral ischemia decreases mortality by reducing brain necrosis and limiting its increase within 4 days in rat stroke model // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9. – № 12. – P. 1-17. 4. Obolenskaia O., Gorodetskaya E., Belousova M., Kalenikova E., Medvedev O. / Neuroprotective potential of ubiquinol after intravenous administration in a rat model of stroke // European

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармацевтической химии,
фармакогнозии и организации фармацевтического дела
Факультета фундаментальной медицины
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова», доктор фармацевтических наук, профессор



Каленикова Е.И.

подпись

Подпись Калениковой Е.И. подтверждаю
Декан Факультета фундаментальной медицины
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»
Академик РАН



В.А. Ткачук

«07» сентября 2022г.