



РОССИЙСКАЯ
ВОЕННО-
МЕДИЦИНСКАЯ
АКАДЕМИЯ

КАФЕДРА
ФАРМАКОЛОГИИ



Санкт-Петербург, 194175, ул. Лебедева, д. 6
E-mail: nevka@mail.rcom.ru

Тел.: (812) 542-43-97
Факс: (812) 234-94-87

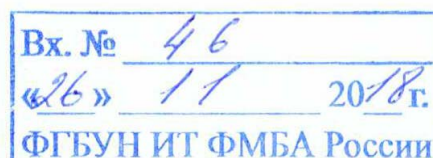
ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук профессора
Зарубиной Ирины Викторовны
на диссертационную работу ТИТОВИЧ ИРИНЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ на тему:
«Антигипоксическая и ноотропная активность янтарной соли фумарового эфира
диэтиламиноэтанола », представленную к защите на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Диссертационное исследование И.А. Титович посвящено актуальной научной задаче – поиску и изучению фармакологических свойств новых высокоэффективных антигипоксических средств с выраженным ноотропным действием, что соответствует утвержденной Правительством Российской Федерации стратегии развития медицинской науки на период до 2025 года. Из применяемых в настоящее время в неврологической практике различных стран нейропротекторов наиболее перспективными являются производные аминотанола. Интерес к этим средствам обусловлен их низкой токсичностью и широкими фармакологическими эффектами, а именно: мембраностабилизирующими, антиоксидантными, способностью повышать уровень свободного холина, доступного для синтеза ацетилхолина, дефицит которого развивается при различных заболеваниях, в том числе болезни Альцгеймера, возрастных амнестических и когнитивных расстройствах. В клинических исследованиях соли и эфиры диметиламиноэтанола продемонстрировали различную и не всегда высокую ноотропную эффективность при гиперактивности, раздражительности, проблемах с концентрацией внимания, долговременной памяти и социальной адаптации, а также при гипоксических и ишемических повреждениях головного мозга различного генеза.

При обосновании темы исследований И.А. Титович справедливо отмечает перспективность повышения эффективности производных аминотанола сочетанием



их с солями органических кислот, проявляющих энергостабилизирующее и антигипоксическое действие.

Вот почему с теоретической и с практической точки зрения важно обращение И.А. Титович к изучению антигипоксической и ноотропной активности янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола.

Сама работа актуальна по проблематике, традиционна по подходам и отличается новизной по полученным результатам.

Структура и оформление работы

Основное содержание работы изложено на 165 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с изложением результатов собственных исследований, заключения с обсуждением результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, включающего 76 отечественных и 201 зарубежных источников. В тексте диссертации содержится 21 рисунок, 21 таблица.

Во **введении** обосновывается актуальность, новизна и практическая значимость исследования, сформулированы цель и задачи исследования, сведения о реализации и апробации материалов диссертации.

В **первой главе** на основании современных литературных данных рассматриваются механизмы повреждения нейронов гипоксического и ишемического генеза, современные подходы их к фармакологической коррекции этих нарушений. Автор подробно останавливается на возможных механизмах действия производных аминотанола, их фармакологической активности, исследованной в эксперименте и в клинической практике.

Дается анализ антигипоксической активности сукцинатсодержащих препаратов мексидола и цитофлавина. Обсуждаются рецепторные механизмы действия сукцината.

Отмечу, что И.А. Титович проявлено хорошее знание отечественной и зарубежной литературы, что позволило составить детальное представление о современном состоянии исследований по данной проблеме за последние десятилетия и сформулировать основание для изучения фармакологической активности янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола.

Во **второй главе** представлены методы исследования, которые включают

- моделирование кратковременной гипоксии и длительной интермиттирующей нормобарической гипоксии,
- моделирование церебральной ишемии перевязкой общих сонных артерий,

- методы оценки поведенческих реакций экспериментальных животных, их координации и когнитивных функций в стандартных тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», условный рефлекс пассивного избегания, «экстраполяционное избавление», «Т-лабиринт» и «Ротарод»,
- биохимические методы, в том числе определение активности каталазы, глутатионпероксидазы, содержания белка,
- гематологические методы определения гемоглобина, числа и объема эритроцитов.

Приведены характеристики использованных в работе препаратов сравнения и методы статистической обработки полученных материалов, подтверждающие достоверность полученных результатов.

Эксперименты выполнены на мышах самцах 504 белых беспородных и линии СВА, 196 белых крысах самцах линии Wistar. Методические приемы, использованные автором, современны и в полной мере отвечают задачам исследования.

В **третьей главе** представлены собственные результаты исследования, посвященные влиянию изучаемого соединения на переносимость мышами острой гипоксии, фармакологической активности янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола при длительной имтермиттирующей нормобарической гипоксии и при ишемии головного мозга.

Содержатся сведения о влиянии изучаемого соединения на когнитивные функции экспериментальных животных.

В целом, последовательность изложения результатов исследований заслуживает положительной оценки.

В **заключении** корректно обсуждены результаты исследования и обобщены полученные данные. Все умозаключения И.А. Титович подкрепляет авторитетными ссылками на современные публикации, касающиеся близких областей исследования.

В итоге автором сформулировано **4 вывода и практические рекомендации**, которые обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Автор определяет **перспективные пути дальнейшей разработки темы**, в которых важное значение отводит доклиническим исследованиям янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола с целью внедрения в клиническую практику.

Статистика

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики, которые позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

Анализ экспериментальных данных диссертации И.А. Титович показал, что все поставленные задачи решены. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Автореферат полностью отражает содержание диссертации и ее выводы.

Автореферат

Сведения, вошедшие в автореферат диссертации, соответствуют структуре диссертационной работы. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК.

Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором

Цель исследования автор видел в изучении антигипоксической и ноотропной активности янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола при гипоксически-ишемических повреждениях мозга.

На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (4), которые заключались в изучении антигипоксической активности бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата (ФДЭС) на моделях нормобарической, гемической и гистотоксической острой гипоксии; его влиянии на поведение животных, биохимические показатели крови и ткани мозга при длительной интермиттирующей нормобарической гипоксии (ДИНГ) и ишемии головного мозга. А также оценку влияния ФДЭС на когнитивные функции животных.

Для решения этих вопросов автор использовал достаточный набор экспериментальных фармакологических, гематологических и биохимических методов, что свидетельствует о компетентности автора и умении правильно выбрать методические приемы для решения цели и задач исследования.

Таким образом, примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам диссертации.

В результате проведенных исследований диссертант сформулировал **ряд важных в теоретическом и практическом отношении положений.**

Во-первых, диссертант установил, что ФДЭС оказывает антигипоксический эффект на моделях острой гипоксии (нормобарической, гемической гистотоксической) в широком диапазоне доз, выявлены наиболее эффективны дозы 10 и 75 мг/кг.

Во-вторых, автор показал, что ФДЭС при длительной интермиттирующей нормобарической гипоксии улучшает ориентировочно-исследовательское поведение,

снижает эмоциональную лабильность и агрессивность. А также уменьшается выраженность лактоацидоза, оксидативного стресса, активируется эритропоэз.

И, наконец, автор убедительно доказал высокую фармакологическую активность ФДЭС при ишемии головного мозга, что проявляется в повышении выживаемости животных и снижении неврологического дефицита.

Публикации

По материалам диссертации автор опубликовал 14 научных работ: из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, один патент на изобретение РФ «Нейропротекторное средство на основе бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата».

Опубликованные материалы в полной мере отражают существо работы.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки, представлением материала в виде рисунков и таблиц, их обстоятельного описания, а также квалифицированного и достаточного по объему анализа. Все это позволяет оценить результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту и выводы как вполне обоснованные.

Научная новизна

Научная новизна полученных результатов И.А. Титович состоит в следующем:

1. в установлении выраженного антигипоксического действия ФДЭС на моделях острой гипоксии (нормобарической, гемической и гистотоксической) в низком диапазоне доз, превосходящего эффекты препаратов сравнения. Автором убедительно доказано недозозависимое антигипоксическое действие в диапазоне доз от 10 до 800 мг/кг, что позволяет исключить ведущую роль в ее проявлении субстратного механизма действия;
2. в выявлении способности ФДЭС предупреждать снижение двигательной и поисковой активности, увеличение агрессивности и эмоциональной лабильности при длительной интермиттирующей нормобарической гипоксии.

3. в установлении способности изучаемого соединения в условиях экспериментальной ишемии головного мозга снижать смертность, улучшать ориентировочно-исследовательское поведение, уменьшать нарушения координации движений, сохранять и воспроизводить полученную информацию, оказывать антиамнестический эффект, сопоставимый с препаратом сравнения пирацетамом.

Научно-практическое значение работы

Экспериментальные исследования И.А. Титович помимо теоретического интереса имеют и практическую направленность, поскольку доказывают перспективность поиска и создания новых ноотропов с антигипоксической активностью на основе аминокэтанола, имеющего в структуре молекулы интермедиаты цикла Кребса.

Полученные автором результаты исследования включены в отчет «Материалы доклинического изучения фармакологических свойств бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоат, по выполнению государственного контракта Минобрнауки РФ №14.N08.12.0120».

Научное значение работы заключается в обосновании целесообразности расширенных доклинических испытаний ФДЭС, а также изучении его эффективности в клинической практике в качестве потенциального корректора гипоксически-ишемических нарушений головного мозга.

Практическое значение также имеет разработанная автором модель длительной интермиттирующей гипоксии, пригодная для моделирования хронического гипоксического стресса и оценки потенциальных нейропротекторных препаратов с его использованием.

А также полученный автором патент на изобретение № 2588365 «Нейропротекторное средство на основе бис{2-[(2E)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилокси]-N,N-диэтилэтанаминия} бутандиоата».

Следует отметить, что экспериментальный материал диссертации хорошо обоснован, содержит четко изложенную доказательную базу, это позволяет использовать его в работах научно-исследовательских организаций.

Вопросы и замечания

В ходе оппонирования диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения.

1. Во второй главе при описании методов оценки антигипоксической активности препаратов (с. 59 текста диссертации) автор указывает, что использовал два подхода: первый при однократном введении во внимание принимались средние групповые показатели индивидуальной гипоксической устойчивости, второй подход использовался при курсовом введении препаратов после моделирования ишемии головного мозга и учитывалось изменение долей животных с различной устойчивостью к гипоксии. С такой оценкой антигипоксической активности препаратов следует согласиться, поскольку она согласуется с требованием Методических рекомендаций по «Биомедицинскому (доклиническому) изучению антигипоксической активности лекарственных средств» ФМБА России 2017 г. Хочется услышать мнение автора, как изменялось соотношение этих групп животных в популяционной структуре устойчивости и почему в таблицах приведены лишь средние групповые показатели?
2. Автором постулируется, что одним из возможных механизмов действия изучаемой янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола может быть взаимодействие с SUCNR1 рецепторами. Почему в качестве препарата сравнения был использован амтизол, а не амтизол-сукцинат?
3. При острой гипоксии все препараты вводили за 40 мин до начала эксперимента. Чем автор объясняет введение препаратов за 10 мин до моделирования длительной интермиттирующей нормобарической гипоксии?
4. Во всех известных экспериментальных и клинических исследованиях амтизол применялся лишь парентерально в связи с невысокой его эффективностью при введении per os. Почему был выбран внутрижелудочный путь введения амтизола и других препаратов?
5. Чем, по мнению автора, на фоне действия изучаемого препарата ФДЭС при хроническом гипоксическом стрессе, для которого характерна активация анаэробных гликолитических процессов, вызвано повышение уровня глюкозы и одновременное снижение содержания лактата?

Все приведенные вопросы не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

Заключение

На основании актуальности выбранной темы, большого фактического материала, научной новизны и практической значимости результатов исследования, можно заключить, что диссертация Титович Ирины Александровны «Антигипоксическая и ноотропная активность янтарной соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи в области фармакологии – поиска и изучения фармакологических свойств новых антигипоксических средств с выраженным ноотропным действием.

Диссертационная работа соответствует критериям, установленным пунктами 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (редакция от 21.04.2016 г. № 335) для кандидатских диссертаций, а ее автор, Титович Ирина Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ:

Старший преподаватель кафедры фармакологии
Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ
доктор биологических наук профессор



И.В. Зарубина

«19» ноября 2018 г.

Подпись И.В.Зарубиной заверяю.

Начальник отдела кадров Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова

194044 г. Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д.6,
тел: (812) 542-43-97, i.v.zarubina@inbox.ru



ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
ОТДЕЛА КАДРОВ ВМЕДА
ПОДПОЛКОВНИК МЕДИЦИНСКОЙ СЛУЖБЫ
А. ЦЫМБАЛЕНКО