

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации по научной работе
доктор медицинских наук профессор

В.Н. Быков

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Колбасова Кирилла Сергеевича «Экспериментальное обоснование комплексного лекарственного средства для ингаляционного применения при поражениях, вызванных пульмонотоксикантами», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.04 – токсикология и 14.03.16 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность исследования. Актуальность диссертационного исследования Колбасова Кирилла Сергеевича обусловлена отсутствием эффективного ингаляционного средства для купирования острого респираторного дистресс-синдрома взрослых (ОРДСВ) при поражениях аварийными химически опасными веществами (АХОВ) пульмонотоксического действия. В Российской Федерации в настоящее время функционирует свыше 10 тыс. химически опасных объектов (ХОО), относящихся к различным отраслям промышленности, большинство из которых расположены в густонаселённых городах. В случае чрезвычайных ситуаций на объектах, срок эксплуатации специального оборудования на которых зачастую превышен, возможен выброс аэрозолей и газообразных токсичных химических веществ в воздух рабочей зоны предприятий и в окружающую среду. Анализ мировой практики подтверждает актуальность опасности возникновения крупномасштабных техногенных аварий и катастроф на ХОО в связи с деятельностью бандформирований и террористических организаций.

Вх. №	29
«26»	08 2016г.
ФГБУН ИТ ФМБА России	

Чрезвычайные ситуации на ХОО характеризуются высокой вероятностью развития массовых ингаляционных отравлений, преимущественно веществами пульмонотоксического действия. Подавляющее большинство ХОО на территории РФ относится к 3 группе по показателю опасности и в случае возникновения аварий на одном объекте в зоне поражения может оказаться не мене 40 тыс. человек. Перечень АХОВ пульмонотоксического действия, включает широкий спектр веществ, однако наибольшую опасность, в силу высокой токсичности и масштабности использования в промышленности и хозяйственной деятельности представляют галогены (хлор, фтор), ангидриды кислот (оксиды азота, оксиды серы), аммиак, галогенпроизводные угольной кислоты (фосген, дифосген), изоцианаты (метилизоцианат).

Токсические поражения органов дыхания зачастую приводят к развитию жизнеугрожающих проявлений ОРДСВ: рефлекторная остановка дыхания, бронхообструктивный синдром, а также токсический отек легких (ТОЛ). Наиболее неблагоприятным вариантом течения отравлений считается прогрессирование ТОЛ в течение 12-48 часов после отравления, при котором летальность может достигать 50 %.

Современные подходы к оказанию экстренной помощи определяются требованиями ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (№ 323-ФЗ от 21.11.2011 г.) и стандартами медицинской помощи, принятыми Министерством здравоохранения РФ. С учетом особенностей течения токсических поражений органов дыхания, наряду с удалением асфиксии, искусственной вентиляции легких и оксигенотерапии предусматривают применение лекарственных препаратов, оказывающих бронхорасширяющее, противовоспалительное, антиоксидантное, нейтрализующее и обезболивающее действие. Считается, что применение лекарственных препаратов указанных групп наиболее эффективно в ингаляционной форме, что обеспечивает доставку лекарственного средства непосредственно в пораженные дыхательные пути.

В настоящее время технологические решения по разработке ингаляционных лекарственных форм обеспечивают высокий уровень доставки препаратов в легкие и возможность комбинирования в одном препарате двух и более лекарственных субстанций. Преимущества

комбинированных ингаляционных препаратов для лечения поражений органов дыхания уже давно подтвердили свою перспективность, в том числе и в эксперименте на различных моделях ОРДСВ. Несмотря на значительные успехи фармакологии до сих пор остается нерешенной проблема профилактики и лечения ТОЛ, который является наиболее тяжелым проявлением ОРДСВ. Многолетний поиск способов его профилактики и лечения свидетельствуют о необходимости разработки новых лекарственных средств для ингаляционного введения, обеспечивающих комплексное лечебное действие на основные механизмы повреждения альвеолярно-гематического барьера.

Таким образом, диссертационное исследование Колбасова Кирилла Сергеевича, направленное **на решение задачи** по поиску новых эффективных ингаляционных средств для купирования ОРДСВ при поражениях АХОВ пульмонотоксического действия (хлор, аммиак, фосген) и лечения хронических неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ), отличается высокой актуальностью и имеет важное теоретическое и практическое значение, как для современной токсикологии, так и для пульмонологии.

Достоверность результатов исследования, обоснованность сформулированных выводов и рекомендаций. Достоверность полученных автором результатов и сделанных на их основании выводов и рекомендаций подтверждается использованием современных методов исследования, репрезентативным объемом выборок, а также соблюдением принципов надлежащей лабораторной практики при проведении доклинических исследований эффективности лекарственных средств. Приведенные в диссертации научные положения и выводы согласуются с опубликованными ранее данными отечественных и зарубежных исследований, и не противоречат теоретическим основам токсикологии и фармакологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций представляется достаточной, что подтверждается большим числом проведенных экспериментов с применением современных токсикологических, биохимических, физиологических и этологических методов исследования, а также статистической обработки полученных результатов. Высокая степень обоснованности и надежности полученных

данных обеспечена разработкой адекватных задачам исследования экспериментальных моделей поражений легких веществами пульмонотоксического действия, воспроизведением результатов в независимых сериях экспериментов, применением высокотехнологичного современного оборудования и программного обеспечения.

Научная новизна полученных результатов определяется тем, что автором впервые получены результаты, свидетельствующие о высокой эффективности Н-холиноблокатора центрального действия педифена и его комбинации с β_2 -адреномиметиком короткого действия сальбутамол при токсических поражениях легких, сопровождающихся развитием ТОЛ. На основании динамики показателей внешнего дыхания и тяжести ТОЛ автором доказана возможность применения комбинированного ингаляционного препарата «Сальбуфен» в качестве средства, купирующего бронхообтурационный и отечный синдромы при отравлениях веществами пульмонотоксического действия (хлор, аммиак, фосген). Кроме того, впервые автором показана высокая эффективность применения препарата «Сальбуфен» для лечения ХНЗЛ.

Сформулированные в диссертации научные положения и выводы характеризуются научной обоснованностью, высокой степенью достоверности, представляют не только теоретический, но и практический интерес для токсикологии и фармакологии лекарственных средств, предназначенных для лечения заболеваний органов дыхания.

Структура диссертации. Диссертация отличается традиционным построением, включает введение, обзор литературы (глава 1), описание материалов и методов исследования (глава 2), описание результатов собственных исследований (главы 3-6), заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы, включающего 127 источников, из них 111 отечественных и 15 иностранных авторов. Работа хорошо иллюстрирована и включает 49 таблиц, 13 рисунков и 2 приложения.

Введение включает описание актуальности исследования, характеристику степени разработанности темы исследования, степени достоверности и апробации результатов, цель и задачи исследования, научную новизну, практическую и теоретическую значимость, положения выносимые на защиту, структуру и объем диссертации. Для достижения

поставленной цели автор решает 4 задачи и выносит на защиту 4 положения. В отдельном подразделе указан личный вклад автора и связь исследования с тематикой научно-исследовательской работы учреждения, что отражает высокие требования к уровню работы.

В ходе ознакомления с разделом «введение» слабо раскрыта актуальность исследования в части касающейся современного состояния решения проблемы профилактики и лечения ТОЛ, а также научная новизна исследования. Это является очень важным обстоятельством, поскольку по данной проблеме в течение последних 20 лет активно проводятся исследования, как в России, так и за рубежом. К настоящему моменту предложено множество способов лечения ТОЛ с использованием ингаляционной доставки лекарственных препаратов различных групп. Из актуальности не понятно, почему необходимо разрабатывать именно комбинированный препарат, а не предлагать перспективные схемы применения существующих лекарственных препаратов и их комбинаций, в том числе с новыми препаратами, в частности с Н-холинолитиком педифеном.

При ознакомлении с описанием актуальности исследования и степени разработанности темы диссертационного исследования автор не опирается на данные других исследований, а количество ссылок о ранее проведенных исследованиях ограничивается двумя за 2004 и 2008 годы. Необходимо отметить отсутствие подразделов, рекомендованных при оформлении диссертаций и авторефератов: «реализация и внедрение результатов работы», «соответствие диссертации области исследования», «соответствие диссертации паспорту научной специальности», «предмет исследований», «объекты исследований». Данные указанных подразделов частично отражены в других подразделах: «связь темы диссертации с плановой тематикой научно-исследовательской работы учреждения», «степень достоверности и апробации результатов».

Первая глава изложена на 40 стр. и представляет собой обзор литературы по анализу токсичности и способам лечения ингаляционных поражений веществами пульмонотоксического действия. В обзоре литературы представлены данные об основных токсических свойствах аммиака, хлора и фосгена, особенности патогенеза и клинической картины

при их отравлениях, а также существующие подходы к лечению. Отдельно рассмотрены возможные отдаленные последствия острых отравлений веществами пульмонотоксического действия. В обзоре литературы кроме описания основных особенностей патогенеза и алгоритмов лечения поражений по существующим стандартам, какого-либо аналитического материала о последних экспериментальных и клинических исследованиях в России и за рубежом не представлено. Вместе с тем, автору следовало бы сконцентрировать внимание на сравнительном анализе эффективности препаратов различных фармакологических групп при ингаляционном применении на экспериментальных моделях и в клинических случаях токсических поражений легких (ОРДСВ) и обосновать потенциальную возможность использования препаратов с Н-холинолитической активностью. В этой главе, практически не дается упоминания о возможности ингаляционного применения стабилизаторов мембран тучных клеток, нестероидных противовоспалительных средств, селективных блокаторов рецепторов цистеиновых лейкотриенов, антиоксидантов, ингибиторов протеолитических ферментов, оказывающих влияние на свертывающую систему, а также ингибиторов фосфодиэстеразы 4 и 5 подтипов, а также отсутствует критический анализ данных о наиболее перспективных комбинациях препаратов. В обзорной главе отсутствует заключение, в котором бы автор мог представить основные выводы о современном состоянии рассматриваемой научной проблемы с обоснованием наиболее важных направлений исследований в области токсикологии и фармакологии для повышения эффективности лечения токсических поражений органов дыхания, в том числе с использованием ингаляционных лекарственных средств.

В результате анализа информационных источников автор отдает предпочтение препаратам четырех фармакологических групп: ингибитор фосфодиэстеразы (эуфиллин), глюкокортикоид (преднизолон), β_2 -адреномиметик (сальбутамол, фенотерол) и Н-холиноблокатор (педифен). Однако из материалов литературного обзора остается не ясным, почему автором были выбраны в качестве перспективных средств именно эти препараты и почему для их применения использовали различные способы

введения. Необходимого в таких случаях обоснования выбранных доз и способов введения в материалах диссертации не представлено.

Вторая глава включает подробное описание материалов и методов исследования. Перечень методов, которые автор использовал для достижения цели и решения поставленных задач, достаточен и позволяет всесторонне оценить эффективность и безопасность препаратов для лечения ОРДСВ, за исключением оценки их взаимодействия. Однако, при расчете доз препаратов автор ограничился упоминанием коэффициента пересчета на крыс 5,9 и не предоставил данные о дозировках препаратов у человека (разовые терапевтические, суточные, по степени тяжести и т.д). В главе приведено описание оригинального способа индивидуальной ингаляционной доставки лекарственных средств. Однако остается не ясным, какие параметры создаваемого аэрозоля были апробированы в исследовании (дисперсность, масс-медианный размер частиц, респирабельная фракция).

Результаты собственных экспериментальных исследований последовательно изложены в соответствии с задачами работы в главах 3-6.

Глава 3 посвящена решению задачи по разработке моделей острых ингаляционных поражений аммиаком, хлором и фосгеном, и модели хронических неспецифических заболеваний легких. Ознакомление с материалами 3 главы подтверждает высокий методический уровень и обоснованность отобранных по результатам экспериментов моделей поражений для оценки эффективности лекарственных средств. В частности, на основании регистрации биологических эффектов (летальность животных, время гибели 50 % животных, выраженность ТОЛ) автором были обоснованы временные и количественные параметры моделей, характеризующиеся достижением у животных токсодозы соответствующей LC_{t99} при условии развития у большинства животных выраженного отека легких (по показателю весовой коэффициент легких (ВКЛ)).

Четвертая глава диссертации посвящена оценке эффективности отобранных автором лекарственных средств на разработанных моделях. В ходе реализации этой задачи автором апробированы рекомендованные для оказания помощи такие препараты, как эуфиллин, преднизолон, сальбутамол, Беротек, а также дополнительно предложенный автором Н-холинолитик педифен. По данным исследования эффективности не ясно, на основании

чего на моделях отравления аммиаком, хлором и фосгеном были обоснованы для последующего исследования педифен и сальбутамол, которые по показателям времени гибели 50 % животных и общей летальности значительно уступали эуфиллину и преднизолону. Данный вывод сделан, главным образом по причине отсутствия лекарственных форм в виде спрея и аэрозоля для данных препаратов. Тогда закономерно встает вопрос, по какой причине их нужно было вообще исследовать. На наш взгляд, данный подход представляется не достаточно обоснованным, так как в результате последующих исследований ценность полученных результатов, в значительной степени, теряется, а достигаемая эффективность применения комбинаций препаратов соответствует сочетанному применению широко используемых препаратов эуфиллина и преднизолона. Учитывая различное время наступления значимых расстройств дыхания на моделях поражения аммиаком, хлором и фосгеном остается не ясным, по какой причине автор не оценивал эффективность препаратов на пике нарушений функции легких.

В пятой главе работы представлены данные эффективности комбинированного применения отобранных средств (сальбутамола с педифеном) – в составе препарата «Сальбуфен». Остается не понятным, почему оценка эффективности комбинации педифена и сальбутамола не проводилась в сравнении с их применением в варианте монотерапии, а подбор доз осуществлен без применения метода изоболографического анализа или многофакторного анализа с построением модели взаимодействия препаратов. Ценность метода изучения взаимодействия препаратов заключается в определении характера взаимодействия, а также графического или количественного установления оптимального соотношения доз препаратов в составе комбинации, что в большинстве случаев позволяет существенно уменьшить дозировку обоих средств. К сожалению в данной работе этому подходу внимания уделено не было, а при оценке эффективности отобранных препаратов сравнение регистрируемых параметров проводилось по отношению к интактным животным, но не контролю отравления.

Повысить значимость работы могли результаты анализа эффективности применения препарата «Сальбуфен» в сравнении с существующей схемой терапии токсических поражений легких, а

неопровержимым доказательством целесообразности дальнейшего исследования препарат «Сальбуфен» могли стать данные о его влиянии на эффективность существующих схем лечения поражений веществами пульмонотоксического действия.

Шестая глава диссертации посвящена исследованию эффективности и безопасности препарата «Сальбуфен». Его эффективность была изучена в отдельных сериях экспериментов на моделях острых ингаляционных поражений аммиаком, хлором и фосгеном, а также на модели неспецифических заболеваний легких. Исследование безопасности препарата включало оценку острой, подострой токсичности и местного раздражающего действия. На основании полученных данных выполнен расчет индекса безопасности препарата для клинического применения.

В заключении автор проводит анализ и обсуждение полученных результатов с указанием наиболее важных данных, полученных в ходе работы. Ознакомление с материалами глав диссертации позволяет сделать вывод о том, что заявленные в работе задачи выполнены в полном объеме, а сформулированные положения, выводы и рекомендации обоснованы результатами проведенных экспериментальных исследований.

Значимость научных результатов для науки и практики. Научная значимость результатов диссертационного исследования Колбасова К.С. очевидна. Автором получены новые данные, которые подтверждают перспективность применения ингаляционных комбинированных препаратов, оказывающих бронхорасширяющие и противоотечное действие при ОРДСВ, и могут стать основой для разработки более эффективных препаратов, предупреждающих ТОЛ.

Значимость результатов для практической деятельности обусловлена решением задачи по разработке новых и совершенствованию существующих подходов к оказанию неотложной помощи при ингаляционных поражениях АХОВ. Внедрение к практику результатов исследования должно способствовать снижению летальности пораженных как при химических, так и термических поражениях органов дыхания. Таким образом, проведенное автором исследование имеет высокую значимость для современной токсикологии и, в целом, для здравоохранения Российской Федерации.

Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационном исследовании, в дальнейшем целесообразно использовать специалистам,

занимающимся проблемами лечения поражений легких при воздействии химических и термических факторов, в частности токсикологам, реаниматологам и комбустиологам.

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 12 печатных работах, включая 1 отчет о НИР и 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования материалов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а также материалах всероссийских и ведомственных научно-практических конференциях. Полученные результаты реализованы в методических рекомендациях ФМБА России «Использование лекарственных средств, имеющих в аптечной сети, для лечения ингаляционных поражений АХОВ из группы пульмоноотоксикантов» (2012 г.).

Текст автореферата соответствует основному содержанию диссертации. Оформление (наименование) таблиц и рисунков не соответствует требованиям к оформлению диссертаций и авторефератов, а их групповая (токсикологическая) принадлежность становится понятной только после прочтения их описательной части.

Диссертация и автореферат написаны, в основном, в соответствии с ГОСТ, однако общий объем автореферата (26 стр.) и диссертации даже без учета приложений (195 стр.) не выдерживает требования ГОСТ к оформлению данного документа.

В ходе прочтения диссертации и автореферата выявлен ряд замечаний по планированию и обоснованию задач исследования, а также замечания по порядку изложения материалов и оценки результатов исследования:

1. Стиль изложения результатов исследования в диссертации достаточно формален и не отражает глубокого анализа полученных данных автором, а ряде случаев требует дополнительного осмысления (термин «эдемопротекторное действие», «ликвидировалась бронхообструкция», «тормозил активацию» и т.п.).

2. Неточности в употреблении фармакологических и токсикологических терминов (например, перечень фармакологических антагонистов хлора, аммиака и фосгена).

3. В большинстве глав отсутствуют вступление и заключение, раскрывающие последовательность и взаимосвязь проводимых экспериментов;

4. В тексте некоторые результаты, имеющие принципиальное значения для оценки фармакологического действия исследованных препаратов, не проанализированы. Вместо этого одной лаконичной фразой автор делает заключение об эффективности того или иного препарата без приведения данных, подтверждающих сформированное суждение.

5. В диссертации и автореферате отсутствует адекватный статистический анализ выживаемости (гибели) животных.

6. При исследовании эффективности отсутствуют данные оценки безопасности на крупных животных, как того требуют руководящие документы по изучению новых лекарственных средств, на которые в своей работе ссылается автор.

7. Эффективность выбранных лекарственных препаратов по показателю выживаемости (вывод 2) в представленных материалах не доказана (отсутствует статистический анализ и корректное сравнение данных в экспериментальных группах).

8. Из 127 источников, представленных в списке литературы, менее 25 % опубликованы за последние 10 лет, что свидетельствует о недостаточном качестве анализа литературы при оформлении аналитической части диссертации. При составлении литературного обзора недостаточно отражено состояние проблемы терапии поражений веществами пульмонотоксического действия за рубежом.

При ознакомлении с материалами диссертации и автореферата возникли следующие вопросы, требующие обсуждения в ходе диссертационной дискуссии:

1. Почему при ингаляционном введении отобранных препаратов не оценивались размер частиц, дисперсность? Могут ли данные параметры определять эффективность препаратов в эксперименте на моделях поражения веществами пульмонотоксического действия у крыс и мышей с учетом коэффициента осаждения в легких?

2. Каково соотношение между респираторной фракцией аэрозоля препаратов и их общей поглощенной дозой и каким образом эти данные коррелируют с соответствующими показателями аэрозоля (препарат «беротек» и сальбутамол) из баллончиков?

3. Какой механизм лечебного действия Педифена при развитии токсического отека легких является ведущим, если известно, что данный препарат относят к Н-холинолитикам центрального действия?

4. За счет какого механизма действия педифен обладает стимулирующим действием в отношении центральной нервной системы (стр. 120)?

5. Лечебный эффект β_2 -адреномиметиков при токсических поражениях легких и дыхательной недостаточности зачастую носит непродолжительный характер и не может заменить необходимость введения средств базисной терапии. Изучалась ли эффективность сочетанного применения ингаляционных и парентеральных средств?

6. На основании каких экспериментальных данных в качестве наиболее перспективной была отобрана комбинация сальбутамола и педифена в сравнении с другими сочетаниями препаратов?

7. Какая задача решалась в экспериментах, предусматривающих профилактическое введение лекарственным препаратов? Каким образом будут оцениваться данные их эффективности учитывая, что стадия клинических проявлений ТОЛ при отравлении фосгеном будет отсрочена во времени, а при поражении аммиаком наступит раньше?

8. Назовите механизм «фармакологического антагонизма» исследованных препаратов в отношении хлора, аммиака и фосгена (таблица 1 автореферата)?

9. Назовите алгоритм переноса ингаляционных доз с животных на человека?

10. Каким образом проводился статистический анализ и сравнение величин, представленных в альтернативной форме?

11. Каким образом проводилась оценка взаимодействия лекарственных препаратов в рецептуре? Докажите отсутствие необходимости применения в вашей работе методов математического моделирования и изоболографического анализа.

12. Определите вид взаимодействия лекарственных средств в составе комбинированного препарата «Сальбуфен»?

13. Представьте доказательства целесообразности многократного использования (31 упоминание) в литературном обзоре (с 29 по 54 страницу) диссертации ссылки на статью Подлесного А.М. и соавторов.

Выводы:

1. По содержанию, по цели и решенным задачам диссертационное исследование соответствует паспортам специальности 14.03.04 – токсикология и 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

2. Диссертация Колбасова Кирилла Сергеевича «Экспериментальное обоснование комплексного лекарственного средства для ингаляционного применения при поражениях, вызванных пульмонотоксикантами» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение по разработке новых и совершенствованию существующих подходов к оказанию неотложной помощи при ингаляционных поражениях АХОВ, а именно установлена безопасность и эффективность новой комбинации лекарственных средств (сальбутамол и педифен) для ингаляционного применения на экспериментальных моделях отравления аммиаком, хлором и фосгеном.

3. По актуальности, научной новизне и научно-практической значимости соответствует требованиям п. 9, абз. № 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (редакция от 02.08.2016) и «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 17.03.2015 г. № 235, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Отзыв рассмотрен и обсужден на заседании НТС НИИЦ (МБЗ) ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ от 23.08.2016 г.

Отзыв составил
Начальник отдела
ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ
доктор медицинских наук доцент

 М.А. Юдин

Подпись Юдина М.А. ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров и строевого
ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ



В.Н. Наумов