

ОТЗЫВ

официального оппонента Башкатовой Валентины Германовны на диссертацию Ворониной Натальи Александровны «Изучение механизмов нейропротекторного действия производных адамантана на разных стадиях экспериментального паркинсонического синдрома», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.3 —патологическая физиология; 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Исследование механизмов развития нейродегенеративных процессов является одной из важнейших проблем современных нейронаук, в частности патологической физиологии. В настоящее время нейродегенеративные заболевания являются одной из основных причин инвалидности во всем мире. Болезнь Паркинсона (БП), так же как болезнь Альцгеймера (БА), относятся к числу наиболее распространенных и тяжелых заболеваний ЦНС, ведущих к инвалидизации пациента, снижению качества жизни не только больного, но и членов его семьи. БП проявляется в первую очередь двигательными нарушениями. Нарушения психического здоровья также являются серьезным немоторным признаком БП. Психические симптомы не редкость среди людей с БП, их частота составляет примерно 25-30%. Патологически отличительным признаком идиопатической БП является потеря дофаминергических нейронов в черной субстанции (ЧС). Патогенез БП является мультифакторным. Так, одним из механизмов патогенеза БП наряду с окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, альфа-синуклеинпатией, нейровоспалением является эксайтотоксичность возбуждающих аминокислот, в том числе глутамата.

В недавних исследованиях получены данные, что глутаматергическая нейротрансмиссия играет важную роль в механизмах дофаминергического повреждения головного мозга. В центральной нервной системе (ЦНС) баланс между возбуждающими и тормозными нейронными связями имеет решающее значение для поддержания нормальной функции. Большинство возбуждающих сигналов опосредованы глутаматом. Глутаматергическая нейротрансмиссия отвечает за многие когнитивные, моторные, сенсорные и вегетативные действия. Как следствие, поддержание внеклеточного уровня глутамата в физиологическом диапазоне имеет решающее значение для обеспечения жизнеспособности нейронов. Известно, что нарушение гомеостаза глутамата имеет важные нейропатологические последствия при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе БП. Накопление глутамата в

синапсе в физиологическом диапазоне токсично и вызывает апоптотическую гибель клеток из-за перегрузки ионами Ca^{2+} при чрезмерной стимуляции глутаматных рецепторов. Вызванная глутаматом эксайтотоксичность является общей отличительной чертой многих нейродегенеративных заболеваний, включая БП, и связана с изменениями в экспрессии транспортеров и рецепторов глутамата, а также, по видимому, с воспалительными процессами. В недавних исследованиях получены данные о том, что препараты, нацеленные на защиту нейронов от эксайтотоксичности глутамата, уменьшения выраженности нейровоспаления и окислительного стресса в ЧС могут рассматриваться как потенциальные средства для торможения процесса нейродегенерации при БП. Одним из таких препаратов является производное адамантана – гимантан. В связи с выше изложенным, диссертационная работа Ворониной Н.А., посвященная изучению патогенетических механизмов на разных стадиях развития паркинсонического синдрома, а также исследованию механизмов нейропротекторного действия гимантана при экспериментальном паркинсонизме является актуальной и имеет теоретическую и практическую значимость.

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

Обоснованность полученных результатов базируется на исследовании достаточного репрезентативного объема фактического материала, а также применении многочисленных современных методов исследований, которые включают поведенческие тесты, спектрофотометрический, иммуноферментный анализ, методы ВЭЖХ и флуоресцентной микроскопии, электроэнцефалографический анализа и др., Использование такого разнообразия методов придает работе дополнительную ценность. Результаты исследования обработаны с применением современных адекватных статистических методов. Выводы соответствуют цели и поставленным задачам.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов и сделанных на этом основании выводов не вызывает сомнения. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью адекватных задачам и выборке методов математического анализа данных, общепринятых в медико-биологических исследованиях.

Научная новизна работы заключается, прежде всего, в получении данных, позволяющих расширить представления о патогенезе БП. В работе проведено углубленное исследование вовлечения в патогенез ранее известных механизмов гибели дофаминергических нейронов при БП на модели ранней (симптомной) и поздней (развернутой) стадии паркинсонического синдрома (ПС), вызванной однократным и многократным введением нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). По мнению автора, многократное введение МФТП в относительно невысокой дозе (12 мг/кг) приводило к моделированию ранней («симптомной») стадии ПС. Соответственно при введении мышам более высокой дозы (20 мг/кг) формировалась поздняя («выраженная») стадия ПС. Кроме того, в работе проводилась оценка выраженности нейровоспаления в нигростриатуме на начальной и поздней стадиях паркинсонизма. С этой целью автор исследовала уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, Интерферона- γ и ФНО- α), содержание которых возрастало с увеличением дозы нейротоксина МФТП.

Диссертантом в данной работе получены приоритетные данные об изменении индекса окислительного статуса в нигростриатном комплексе мозга мышей уже на ранней стадии заболевания. Нейрофизиологические изменения на ранней и поздней стадиях ПС изучены с помощью ЭЭГ-исследования. Автором показано, что наиболее выраженные изменения, по сравнению с контрольными значениями были выявлены в сенсомоторной коре (СК). В поведенческих тестах было обнаружено, что производное адамантана-гимантан, по сравнению с мидантаном, более эффективно снижал выраженность паркинсонической симптоматики – олигокинезии и ригидности на ранней (симптомной) стадии, чем на поздней (более выраженной) стадии МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома.

Полученные автором результаты позволили проанализировать молекулярный механизм нейропротекторного действия препарата гимантана в исследованиях на культурах клеток с помощью флуоресцентных зондов и показать способность гимантана обратимо ингибировать NMDA-рецепторы, защищать нейроны от развития кальциевой дисрегуляции, сохраняя физиологические токи ионов натрия и способность к нервной трансмиссии в условиях моделирования эксайтотоксичности глутамата.

Научно-практическая значимость

Научно-практическая значимость диссертации Ворониной Н.А. определяется тем, что она вносит существенный вклад в недостаточно разработанную на сегодняшний день область, находящуюся на стыке патофизиологии, фармакологии и неврологии. В результате выполненных

исследований автором показана репрезентативность МФТП моделей ПС на мышах линии C57BL/6J с использованием дозировок, моделирующих раннюю и позднюю стадию ПС при многократном введении нейротоксина. Выявлено и объяснено нейропротективное действие производного адаманатана - гимантана, показана наибольшая эффективность данного препарата именно на начальной стадии ПС, что должно найти отражение в проведении клинических испытаний данного препарата на пациентах с БП. Кроме того, изучение молекулярных механизмов обратимости ингибирующего действия гимантана на культуре нейронов позволяет выявить новые мишени для разработки оригинальных лекарственных препаратов для защиты от нейротоксических эффектов глутамата.

Общая характеристика работы

Диссертация Ворониной Н.А. построена по традиционному принципу и состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Материалов и методов исследования», «Результатов работы и их обсуждения», «Заключения», «Выводов» и «Списка литературы», изложена на 192 страницах и иллюстрирована 7 таблицами и 43 рисунками, список литературы, включающий работы на русском (48) и иностранном (348) языках.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну и практическую значимость. Выдвинутые цель и задачи исследования, как и положения, выносимые на защиту, отражают суть проделанной работы. Обзор литературы представляет критический анализ экспериментальных данных по изучаемой проблеме. Он хорошо иллюстрирован, материал представлен логично и последовательно. Важной частью обзора является раздел, посвященный существующим экспериментальным подходам к изучению механизмов нейродегенерации в ЧС при БП. Автор подробно анализирует преимущества и недостатки различных экспериментальных подходов и достаточно убедительно выбор использованной им в этом исследовании модели экспериментального ПС.

Глава «Материалы и методы исследования» дает достаточно полное представление об используемом автором подходе, дизайне эксперимента, методологии изучения механизмов патогенеза паркинсонического синдрома, методах статистической обработки данных. В главе подробно описаны методы и все этапы эксперимента, что важно для оценки достоверности полученных результатов и возможности их воспроизведения.

В главе «Результаты и обсуждение» диссертант последовательно решает поставленные задачи. Сначала автор приводит результаты исследования двигательных нарушений на модели с однократным введением

МФТП без и с предварительным введением фармакологических препаратов, потом обосновывает переход на модель с многократным введением нейротоксина МФТП. Полученные Н.А. Ворониной данные демонстрируют преимущество противопаркинсонических эффектов гимантана перед мидантаном. Эти результаты объясняют дальнейшее подробное изучение воздействия гимантана на ключевые механизмы патогенеза БП, а именно на показатели эксайтотоксичности глутамата, окислительного стресса, нейровоспаления. Наличие в этом разделе электрофизиологического анализа (ЭЭГ-регистрации) взаимодействия подкорковых структур головного мозга животных демонстрирует способность препарата – гимантана нормализовывать функциональную активность поврежденных структур, что логически подводит к заключительной части диссертационной работы и выводам.

Раздел «Заключение» подводит итог проведенных исследований, обобщает полученные результаты. Таким образом, в работе Ворониной Н.А. исследованы нейропротекторные свойства фармакологических препаратов из группы производных адамантана на модели экспериментального паркинсонического синдрома. Выводы диссертации аргументированы, соответствуют полученным данным, целям и задачам исследования.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями. Результаты исследований полностью опубликованы в 10 печатных работах, в том числе в 5 статьях в рецензируемых журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК РФ и в 5 тезисах в сборниках докладов научных конференций и конгрессов.

Замечания и вопросы по диссертации

На основании анализа всего комплекса данных, полученных в результате проведенной работы, автором сделаны обоснованные выводы, которые полностью соответствуют поставленным задачам. Принципиальных замечаний нет, отмечаются стилистические погрешности, отдельные пометки. Все же хотелось получить ответы на следующие вопросы:

- 1) Как вы считаете, возможно ли объяснить положительные эффекты гимантана в отношении замедления прогрессирования нейродегенерации в ЧС одной лишь блокадой NMDA-рецепторов или предполагаются дополнительные механизмы его фармакологического действия?
- 2) В чем принципиальное, по-вашему мнению, преимущество гимантана перед уже известными препаратами с нейропротекторными свойствами, предложенными для лечения БП?

