

ОТЗЫВ

официального оппонента Яснецова Виктора Владимировича на диссертационную работу 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 и 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Как известно, болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, в основе которого лежит неуклонно прогрессирующая дегенерация дофаминергических нейронов, наиболее выраженная в компактной части черной субстанции, что сопровождается классическим патологическим симптомокомплексом: брадикинезией, ригидностью, тремором и постуральной неустойчивостью. Патогенез БП связан также с окислительным стрессом, накоплением ионов железа и патологически измененного альфа-синуклеина, нейровоспалением, эксайтотоксичностью глутамата и чрезмерным увеличением внутринейрональной концентрации ионов Ca^{2+} , повреждением митохондрий и др. При этом манифестация первых симптомов происходит тогда, когда степень нейродегенерации в черной субстанции превышает 60%.

Основным методом лечения БП в клинике является заместительная фармакотерапия, направленная на восполнение дефицита дофамина. В настоящее время из дофаминергических средств широко применяют только комбинированные препараты, содержащие леводопу с ингибиторами периферической ДОФА-декарбоксилазы, однако это не позволяет замедлить прогрессирование заболевания, не всегда дает возможность добиться положительной динамики, а также вызывает развитие выраженных побочных эффектов. Поэтому поиск лекарственных средств, обладающих способностью уменьшать гибель дофаминергических нейронов путем воздействия на основные механизмы патогенеза БП, продолжает оставаться важной проблемой фармакологии.

В связи с этим актуальность диссертационного исследования Ворониной Н.А., посвященного изучению патогенетических механизмов паркинсонического синдрома (ПС) на ранней и поздней стадиях его развития и исследованию механизмов нейропротекторного и противопаркинсонического действия адамантанов, в том числе способности гимантана снижать гибель дофаминергических нейронов черной субстанции на разных стадиях ПС, не вызывает сомнений.

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

С учетом объективности выбора модели паркинсонического синдрома (нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП)) с использованием различных доз нейротоксина для воспроизведения начальной (симптомной) и поздней (развернутой) стадий паркинсонизма, достаточного для репрезентативности исследования количества животных (более 350 мышей), использование соразмерных поставленным задачам современных и разноплановых методов исследований, широко охватывающих разные звенья патогенеза БП, а также детальный анализ полученных результатов с соответствующей статистической обработкой, можно утверждать, что положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации диссертации экспериментально обоснованы.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью адекватных методов математической статистики, общепринятых в медико-биологических исследованиях, в связи с чем достоверность полученных результатов и сделанных на этом основании выводов не вызывает сомнений.

Впервые в работе изучены механизмы, лежащие в основе патогенеза БП в зависимости от стадии заболевания, в том числе окислительного стресса

и нейровоспаления, и проанализирована эффективность производного адамантана – гимантана. Так, например, у мышей отмечено достоверное уменьшение уровня IL-1 β , интерферона- γ , ФНО- α в нигростриатуме на ранней стадии ПС и снижение только уровня IL-6 на поздней стадии ПС на фоне предварительного введения гимантана. Также выявлено повышение уровня общего окислительного статуса и индекса окислительного стресса в нигрокаудатном комплексе на ранней стадии ПС, которое нивелируется гимантаном.

Описаны изменения проявлений ПС на ранней и поздней стадиях при ЭЭГ-исследовании и проведен анализ эффективности предварительного применения гимантана. Продемонстрировано положительное влияние препарата на нивелирование ЭЭГ-проявлений паркинсонизма: гимантан устраняет чрезмерный рост амплитуды всех групп волн, нормализует тета-активность, увеличивает мощность ритмов, снижает патологическое замедление и дизрегуляторную активность в диапазонах бета- и дельта-волн в черной субстанции.

На культурах клеток головного мозга с помощью флюоресцентных зондов показано, что действие гимантана на NMDA-рецепторы обратимо: в большинстве нейронов была восстановлена исходная концентрация ионов Ca²⁺, и получен ответ этих клеток на последующее введение агониста NMDA-рецептора. Кроме того, путем регистрации митохондриального потенциала нейронов было выявлено его способность значительно сокращать количество клеток с отсроченной кальциевой дизрегуляцией, что подтверждает нейропротекторные свойства препарата.

Установлено, что гимантан, действуя на указанные ранее механизмы патогенеза БП, способен увеличивать выживаемость дофаминергических нейронов в черной субстанции: он в дозе 20 мг/кг предупреждал снижение числа тирозингидроксилаза-позитивных нейронов на ранней стадии ПС.

Кроме того, выявлено снижение уровня дофамина, его метаболитов (диоксифенилуксусной и гомованилиновой кислот), норадреналина, а также

серотонина в стриатуме мышей на ранней и, в большей степени, на поздней стадии развития ПС. При этом гимантан (20 мг/кг) уменьшает выраженность паркинсонической симптоматики у животных (тесты «Открытое поле», «RotaRod», «Вертикальный стержень» и др.) на ранней стадии ПС и превосходит по эффективности мидантан.

Научно-практическая значимость

Полученные результаты позволяют расширить представления о патогенезе БП и выявить особенности механизма действия гимантана на ранней и поздней стадиях развития ПС. Данные о том, что указанный препарат тормозит развитие симптомов на ранней стадии ПС и уменьшает выраженность симптоматики на поздней стадии указывают на потенциальную возможность его применения в эти периоды с целью повышения выраженности антипаркинсонического и нейропротекторного действия.

Результаты исследования обосновывают дальнейший поиск среди производных адамантана соединений с нейропротекторной и противопаркинсонической активностью.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа изложена на 192 страницах и состоит из: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 396 источников (из них 348 зарубежных). Работа иллюстрирована 43 рисунками и содержит 7 таблиц.

Во введении обоснована актуальность избранной темы, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, описана научная новизна и научно-практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, результаты апробации материалов исследования, сведения о публикациях основных результатов.

В обзоре литературы проанализированы данные об этиологии и ведущих звеньях патогенеза БП, роли окислительного стресса, активации микроглии и роста провоспалительных цитокинов, эксайтотоксичности глутамата и NMDA-рецепторов в развитии заболевания, описан опыт предшествующих исследований блокаторов NMDA-рецепторов в качестве терапии БП и нейропротекции, причины возможных неудач и пути их преодоления, представлены производные адамантана, отдельно освещены методы моделирования паркинсонического синдрома путем введения МФТП и различные подходы с обсуждением их достоинств и недостатков.

Глава «Материалы и методы исследования» содержит подробное описание моделирования ПС, экспериментов на культурах клеток, морфологических, электрофизиологических и фармакологических исследований, метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также характеристику производных адамантана.

В главе «Результаты и обсуждение» представлены полученные экспериментальные данные и результаты их анализа. Особо необходимо отметить результаты исследования влияния производных адамантана на уровень дофамина и его метаболитов диоксифенилуксусной кислоты и гомованилиновой кислоты в стриатуме мышей на разных стадиях ПС, нейропротекторного действия препарата, заключающееся в предупреждении снижения числа тирозингидроксилаза-позитивных нейронов на ранней стадии ПС, а также оценки кальциевого гомеостаза в культуре нейронов головного мозга.

В главе «Заключение» подведены общие итоги исследования, в краткой форме обобщены основные положения диссертации, проведен анализ полученных результатов и их сопоставление с данными литературы.

Выводы и практические рекомендации непосредственно вытекают из полученных данных, обоснованы, строго аргументированы, соответствуют целям и задачам исследования и положениям, выносимым на защиту.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в

соответствии с современными требованиями.

Результаты исследований полностью опубликованы в 9 печатных работах, в том числе в 5 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных замечаний и возражений по диссертации нет. Однако в ней, как и в любой большой работе, встречаются некоторые опечатки, неточности и неудачные стилистические обороты.

Также при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Чем можно объяснить бóльшую эффективность гиматана в сравнении с мидантаном в отношении снижения выраженности олигокинезии и ригидности на ранней стадии экспериментального паркинсонического синдрома?

2. Какими, по Вашему мнению, побочными эффектами может обладать гимантан?

Следует отметить, что сделанные замечания, безусловно, не снижают общую положительную оценку диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ворониной Натальи Александровны «Изучение механизмов нейропротекторного действия производных адамантана на разных стадиях экспериментального паркинсонического синдрома» является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – расширение представлений о патогенезе болезни Паркинсона и выявление особенностей механизма действия гимантана на ранней и поздней стадиях развития паркинсонического синдрома, определяющее патогенетически обоснованную терапию

заболевания, что имеет существенное значение для патологической физиологии и фармакологии.

По актуальности, новизне, теоретической и научно-практической значимости результатов и объему проведенных исследований работа соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.3 – патологическая физиология и 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология.

И.о. ведущего научного сотрудника –
заведующего лабораторией
экспериментальной и клинической
фармакологии, заместителя заведующего
отделом космической
радиобиологии и фармакологии
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Государственный научный центр РФ –
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук
(ГНЦ РФ – ИМБП РАН),
доктор медицинских наук

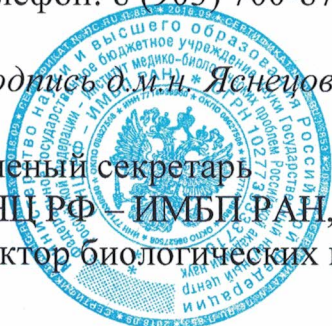
Яснецов Виктор Владимирович

«17» ноября 2021 г.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А,
телефон: 8 (903) 700-87-18, e-mail: vicyas@yandex.ru

Подпись *д.м.ц. Яснецова В.В.* заверяю

Ученый секретарь
ГНЦ РФ – ИМБП РАН,
доктор биологических наук



Левинских Маргарита Александровна