

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук
Яснецова Виктора Владимировича на диссертационную работу
Литвиновой Светланы Александровны «Разработка оригинальных
противоэпилептических средств с нейропротективным, прокогнитивным
и анксиолитическим эффектами», представленной на соискание
ученой степени доктора биологических наук по специальности
3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология**

Актуальность проблемы

Как известно, эпилепсия – полиэтиологическое хроническое заболевание головного мозга, характеризующееся повторными (два и более) неспровоцированными эпилептическими припадками. Частота встречаемости заболевания составляет 3 случая на 1000 человек, оно развивается в любом возрасте вне зависимости от половой принадлежности и нередко сопровождается потерей трудоспособности.

Эпилепсия может быть как самостоятельным заболеванием, так и симптомом другой патологии. Одной из ведущих причин увеличения доли больных эпилепсией являются сосудистые заболевания головного мозга. Каждый год за счет постинсультных и посттравматических осложнений число больных эпилепсией увеличивается на 4 млн человек. При этом высокая доля развития судорожных приступов после перенесенного инсульта выявляется у детей. Кроме того, эпилепсия может быть фактором риска развития повторного нарушения мозгового кровообращения.

Необходимость создания противосудорожных лекарственных средств с нейропротекторной активностью продиктована сходством патогенеза ишемии и эпилепсии. Нарушение мозгового кровообращения вызывает изменения пластичности аксонов и дендритов и перестройку нейрональных связей, что в результате может стойко модифицировать образование и распространение ритмов головного мозга в течение нескольких недель после инсульта. Такие больные также страдают депрессией, тревожными состояниями и нарушением когнитивных функций.

В настоящее время для лечения эпилепсии применяется более 30 противозепилептических препаратов (ПЭП), однако многие из них обладают серьезными побочными эффектами, в том числе эмбриотоксическим и канцерогенным потенциалом, при длительном приеме вызывают депрессию, тревожность и когнитивные нарушения. Поэтому в комплексной терапии данного заболевания используют кроме противосудорожных средств ноотропные препараты, транквилизаторы, антидепрессанты и др. Следовательно, необходимо создание ПЭП нового поколения, лишенных побочных эффектов и сочетающих противосудорожную и нейропротекторную активность.

В связи с этим актуальность диссертационного исследования Литвиновой С.А., посвященного поиску потенциальных лекарственных средств нового поколения для фармакотерапии эпилепсии, сочетающих противосудорожное, нейропротекторное, прокогнитивное и анксиолитическое действие, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

Среди производных фенилпирролидона, оксимов бензоилпиридина и дибензофуранона выявлены оригинальные соединения, обладающие противосудорожной активностью на различных моделях эпилепсии, а также нейропротекторными и нейропсихотропными свойствами, что является преимуществом перед известными ПЭП первой линии.

Продемонстрированы особенности развития пароксизмальной активности и спектральные изменения в постишемический период на модели глобальной ишемии мозга крыс. Установлено появление доминантных очагов эпилептической активности в зависимости от времени постинсультного периода: на ранних сроках ишемии лидирующей структурой является кора большого мозга, а на поздних – гипоталамус.

Разработанная методология фармакологического скрининга для поиска соединений, сочетающих противосудорожную активность с

ноотропными, противогипоксическими, нейропротекторными и психотропными свойствами, позволила автору определить спектр фармакологических эффектов соединений-лидеров и особенности их противосудорожного действия.

Определены структурные «мишени» противосудорожного действия соединений на различных стадиях формирования эпилептической системы: ими для производного оксима бензоилпиридина ГИЖ-298 являются контрлатеральная кора, гиппокамп и гипоталамус, для производного оксима дибензофуранона ГИЖ-272 – гипоталамус и гиппокамп, для другого производного оксима дибензофуранона ГИЖ-332 – корковые структуры, а для производного 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 – гиппокамп.

Показано, что у животных после судорог, вызванных максимальным электрошоком (МЭШ), увеличиваются скорость метаболизма и содержание дофамина и снижается плотность дофаминовых D₂-рецепторов в стриатуме. Выявлена эпилептогенная роль чрезмерной функциональной активности сигнального MAP-зависимого киназного пути (ERK1/2 киназ) в стриатуме в реализации судорог, вызванных МЭШ. Установлено, что компонентами механизма реализации противосудорожного действия ГИЖ-298 является его способность снижать чрезмерно возросшую функциональную активность дофаминергической системы и ERK1/2 киназы в стриатуме и увеличивать плотность дофаминовых D₂-рецепторов в той же структуре, а также увеличивать содержание тормозных аминокислот (ГАМК, таурин, глицин) в гипоталамусе. Установлено, что ГИЖ-298 в отличие от вальпроевой кислоты является прямым (умеренным по сравнению с блокатором MEK киназ – U0126) ингибитором звеньев ERK1/2-каскада, что было показано на клетках нейробластомы человека в концентрациях, близких к терапевтическим. Данное соединение, как и вальпроевая кислота, препятствовала МЭШ-индуцированному увеличению активности ERK1/2 киназ и синапсина I в стриатуме мышей, участвующих в

глутаматергической синаптической передаче и, как следствие, в возбудимости нейронов.

Также обнаружено, что структурные «мишени» действия соединения ГИЖ-272, выявленные на моделях глобальной ишемии мозга и хронической очаговой эпилепсии, совпадают. Показано, что ГИЖ-272 устраняет раннюю постишемическую пароксизмальную активность на протяжении 7 суток после ишемии во всех исследуемых структурах головного мозга с наибольшей выраженностью эффекта в гипоталамусе и гиппокампе и не влияет на появление ее на 28-е сутки патологии. ГИЖ-272 сочетает противосудорожные и нейропротекторные свойства, выявленные на моделях ишемического и геморрагического инсультов, устраняя неврологический дефицит и увеличивая выживаемость животных. Установлено, что нейропротекторный эффект ГИЖ-272 сопровождается увеличением количества выживших нейронов в коре больших полушарий и в слоях гиппокампа, а также предотвращением дезорганизации нейрональных слоев коры.

Кроме того, методом радиолигандного анализа *ex vivo* определена вовлеченность ГАМК_B-рецепторов в механизм противосудорожного действия ГИЖ-290, а ГАМК_A-рецепторов в таковой эффект леветирацетама.

Научно-практическая значимость работы

Разработанная методология фармакологического скрининга для поиска соединений, сочетающих высокую противосудорожную активность с ноотропным, противогипоксическим, нейропротекторным и психотропными эффектами может быть использована при поиске новых потенциальных противозепилептических средств.

Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего расширенного доклинического изучения ГИЖ-290, ГИЖ-298 и ГИЖ-272 в качестве средств лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний, в том числе посттравматических и постишемических.

Выявленные особенности спектров противосудорожной активности новых соединений позволяют рекомендовать их для изучения при различных формах эпилепсии: ГИЖ-298 в качестве средства фармакотерапии очаговой (фокальной) эпилепсии, эпилептического статуса, в том числе рефрактерного; ГИЖ-290 – для лечения парциальных судорог, ювенильной миоклонической эпилепсии, при гиппокамп-опосредованных судорогах с нарушением когнитивных функций; ГИЖ-272 – при постинсультной и посттравматической эпилепсии и последующих когнитивных нарушений.

Определение структурных мишеней головного мозга, на которые оказывают действие известные ПЭП и новые соединения, позволяет прогнозировать эффективность лекарственных препаратов и индивидуально подойти к лечению больных в зависимости от выявленного у них детерминантного очага эпилептической активности.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Достаточный объем хорошо спланированных исследований, использование валидированных экспериментальных моделей и тестов, а также детальный анализ полученных результатов позволяют утверждать, что выводы и положения диссертации экспериментально обоснованы.

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.

Общая характеристика работы

Диссертация изложена на 271 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 7 глав результатов экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована

достаточным количеством таблиц и рисунков. Библиографический указатель включает 381 источник.

Во введении диссертации автором четко сформулированы актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы на основе анализа большого количества источников приведены данные по эпидемиологии, этиологии, патогенезу и фармакотерапии эпилепсии.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно изложены сведения об используемых методах: по изучению противосудорожной активности на различных моделях эпилепсии, моделях ишемии головного мозга и интрацеребральной посттравматической гематомы, методе радиорецепторного связывания с различными типами рецепторов головного мозга, высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией и др. (всего 22 методики).

В 6 главах раздела «Результаты и их обсуждение» представлены данные по изучению фармакологической активности и анализу механизма действия изучаемых новых веществ, а также препаратов сравнения. Первичные исследования выявили наиболее эффективные соединения в каждом химическом ряду и в дальнейшем были подробно изучены их спектр фармакологической активности и механизмы действия, а также побочные эффекты и токсичность.

В «Заключении» представлен анализ полученных результатов и сопоставление их с литературными данными.

Выводы непосредственно вытекают из полученных данных, обоснованы, аргументированы, соответствуют целям и задачам исследования.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

По материалам диссертации опубликовано 62 печатные работы, в том числе 31 статья в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России (из которых 27 – в журналах, входящих в международные базы цитирования Scopus и Web of Science) и получены 3 патента РФ на изобретение.

Критические замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений диссертация не вызывает, однако в ней, как и в любой большой работе, встречаются опечатки и неточности.

При ознакомлении с работой возникли следующие вопросы:

1. Какой из описанных Вами компонентов механизма противосудорожного действия вещества ГИЖ-298 является ключевым?
2. Каков предположительный механизм ноотропного действия соединения ГИЖ-290?
3. По Вашему мнению, какое из наиболее эффективных соединений – производное оксима бензоилпиридина ГИЖ-298, оксима дибензофуранона ГИЖ-272 или 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 – является наиболее перспективным для дальнейшей разработки в качестве нового противоэпилептического средства?

Следует отметить, что сделанные замечания и заданные вопросы не снижают общую положительную оценку диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Литвиновой Светланы Александровны «Разработка оригинальных противоэпилептических средств с нейропротективным, прокогнитивным и анксиолитическим эффектами» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения о перспективах создания новых противосудорожных средств, сочетающих нейропротекторный, прокогнитивный и анксиолитический эффекты,

совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение в фармакологии и клинической фармакологии (п.9).

По актуальности темы, методологическому и методическому уровню, новизне полученных результатов, объему проведенных исследований, научно-практической значимости, публикациям работа полностью соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» (утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. с изменениями в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а Литвинова Светлана Александровна заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Доктор медицинских наук,
ведущий научный сотрудник –
заведующий лабораторией экспериментальной
и клинической фармакологии,
заместитель 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)



Яснецов Виктор Владимирович

«30» ноября 2023 г.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А,
телефон: 8 (499) 195-23-63, e-mail: vicyas@yandex.ru

Подпись д.м.н. В.В. Яснецова заверяю

Ученый секретарь
ГНЦ РФ – ИМБП РАН,
доктор биологических наук



Левинских Маргарита Александровна