

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Кировой Ю.И. на диссертационную работу Литвиновой Светланы Александровны **«Разработка оригинальных противоэпилептических средств, сочетающих противосудорожные свойства с нейропротективным, прокогнитивным и анксиолитическим эффектами»**, представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность

Эпилепсия – хроническое неврологическое заболевание, характеризующееся спонтанными рецидивирующими судорогами и коморбидными когнитивными и психоэмоциональными (тревожность, депрессия) нарушениями. Эпилепсия полиэтиологична, развивается после перенесенных травм мозга, инсультов, инфекционных энцефалитов, интоксикаций, опухолей мозга, а также генетически детерминирована. В связи с увеличением доли стареющего населения в современном обществе отмечается тенденция роста заболеваемости эпилепсией, впервые выявленной в старческом возрасте, сопряженной с деменцией и нейродегенерацией.

Различия в механизмах эпилептогенеза предполагают необходимость применения противоэпилептических препаратов (ПЭП) эффективных при разных формах эпилепсии (генерализованная, фокальная, бессудорожная абсансная). Несмотря на широкое разнообразие ПЭП треть пациентов не могут контролировать приступы судорог имеющимися фармакологическими препаратами, что свидетельствует о нерешенной на современном этапе проблеме фармакорезистентной эпилепсии.

Одной из острых проблем применяемой антиконвульсантной терапии является ее преимущественная нацеленность на купирование и/или предупреждение приступов, однако ПЭП не оказывают нейропротективного и нейрорепаративного действия и, более того, вызывают неблагоприятные про-дегенеративные/атрофогенные побочные эффекты, способные усугублять нейropsychические нарушения пациентов (бромиды, бензодиазепиновые производные, барбитураты) и оказывать в перспективе проконвульсивное действие.

Таким образом, разработка ПЭП, сочетающих нейропротективное, нейрорепаративное, прокогнитивное и анксиолитическое действия является остро востребованной в клинической неврологии.

Диссертационная работа Литвиновой Светланы Александровны посвящена разработке препаратов нового поколения для лечения эпилепсии, сочетающих противосудорожное, нейропротективное и нейропсихотропное действие.

### **Новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций**

Впервые в РФ разработаны новые препараты с противосудорожной активностью, сочетающие нейропротективные, прокогнитивные и анксиолитические эффекты (ГИЖ-298, ГИЖ-290, ГИЖ-272, ГИЖ-332). Препараты являются новыми аналогами в рядах производных оксимов дибензофуранона (ГИЖ-272, ГИЖ-332) и фенилпирролидона (ГИЖ-290). Другие производные фенилпирролидона (леветирацетам, селетрацем, бриварацетам), разработанные за рубежом и широко применяемые в клинике, уступают новым соединениям в антиконвульсивной активности.

Впервые показана высокая противосудорожная и анксиолитическая активность представителя ряда оксимов бензоилпиридина ГИЖ-298. Исследования противосудорожной активности производных бензоилпиридина отсутствуют в мировом опыте. ГИЖ-298 характеризуется уникальной широтой противосудорожной активности, выявленной как в моделях генерализованных, так и фокальных судорог, эпилептического статуса, генетически-детерминированных судорог, что выделяет препарат из когорты существующих ПЭП первой линии, эффективных в купировании приступов генерализованных либо фокальных судорог. ГИЖ-298 оказывает влияние на структуры мозга, играющие ключевую роль как в развитии судорожных припадков, так и в изменении эмоционального поведения.

Установлены компоненты нейрхимического механизма реализации противосудорожного действия ГИЖ-298 в модели МЭШ-индуцированных судорог. Впервые показано, что в условиях модели соединение увеличивает сниженное судорогами количество D2-подобных рецепторов на мембранах стриатума, которые относятся к «антиэпилептической» системе, и ингибирует активность ERK1/2 киназ (MAP-киназы) в стриатуме. Нормальное распределение D2 рецепторов и баланс D1/D2 рецепторов на ГАМК-нейронах стриатума обеспечивает контроль за нейрональным возбуждением через регулирование активности ERK1/2 киназ: передача сигналов через D2 рецепторы ингибирует митогенактивируемые киназы (ERK1/2) и экспрессию NMDA-рецепторов, приводя к снижению выброса глутамата. Кроме того, дисбаланс D1/D2 рецепторов в сторону уменьшения второго типа, найденный

при судорожных состояниях в экспериментальных моделях и клинике у пациентов, способствует снижению экспрессии и транспорта ГАМКА рецепторов на мембрану в стриарных нейронах. Таким образом, ингибирование функциональной активности ERK1/2 киназ и восстановление D2 рецепторов может быть перспективной мишенью для разработки новых противоэпилептических препаратов. Под действием ГИЖ-298 установлено также восстановление баланса тормозных нейромедиаторных кислот в гипоталамусе, сниженное судорогами, таких как ГАМК, глицин, таурин.

ГИЖ-272 наряду с противосудорожной активностью в моделях острой генерализованной и хронической фокальной эпилепсии, купирует развитие приступов в раннем и позднем постишемических периодах. ГИЖ-272 проявляет нейропротекторные, противоишемические и противогипоксические свойства. Соединение ГИЖ-272 обладает нейропротективным эффектом на модели церебральных повреждений мозга по ишемическому (глобальная ишемия) и геморрагическому типу (посттравматическая гематома). ГИЖ-272 защищает животных от гибели и уменьшает выраженность неврологического и когнитивного дефицитов, вызывает увеличение количества выживших нейронов в коре больших полушарий и в гиппокампе (особенно в зубчатой извилине гиппокампа) и предотвращает дезорганизацию нейрональных слоев коры больших полушарий.

ГИЖ-290 проявляет высокую противосудорожную активность в моделях очаговых судорог и ноотропное действие, превосходящее широко применяемый ПЭП препарат первой линии леветирацетам. Установлено, что в механизм противосудорожного действия ГИЖ-290 вовлекаются ГАМКВ-рецепторы, а в противосудорожный эффект леветирацетама ГАМКА-рецепторы и структурной «мишенью» для обоих веществ является гиппокамп.

### **Научно-практическая значимость**

Результаты работы показывают необходимость дальнейшего доклинического исследования соединений ГИЖ-298, ГИЖ-272, ГИЖ-290 и ГИЖ-332 с целью создания оригинальных отечественных препаратов, оказывающих сочетанное противосудорожное, противоишемическое, нейропротективное действия, а также влияющих на когнитивную и эмоциональную сферу для лечения различных форм эпилепсии: ГИЖ-298 в качестве средства лечения очаговой (фокальной) эпилепсии, эпилептического статуса, в том числе рефрактерного; ГИЖ-290 в качестве средства лечения парциальных судорог, ювенильной миоклонической эпилепсии с нарушением

когнитивных функций; ГИЖ-272 для лечения постинсультной эпилепсии, пост-травматической эпилепсии, пост-инсультных и пост-судорожных когнитивных нарушений.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа построена по классическому типу и оформлена согласно общим требованиям: изложена на 271 странице компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, 7 собственных глав результатов, их обсуждение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы. Работа иллюстрирована 66 таблицами и 50 рисунками.

Раздел «введение» содержит сведения об актуальности темы и степени ее разработанности, постановку цели и конкретные задачи исследования; в нем описаны научная новизна и научно-практическая значимость работы, примененная методология и методы исследования. Во «введении» также приведены семь основных положений, выносимых на защиту, оценка степени достоверности полученных результатов, а также сведения о личном вкладе соискателя и публикации материалов исследования.

Обзор литературы выстроен логично, приведены ссылки как на более ранние, классические работы, так и на исследования последних лет. Данный раздел свидетельствует о глубокой проработке проблемы и посвящен этиологии и патогенезу развития эпилепсии.

Раздел «Материалы и методы» содержит описание материалов и методов исследования. Описание материалов, методов и дизайна исследования выполнено достаточно подробно, что делает понятным технологию решения поставленных задач. В работе был использован широкий спектр оптимальных методов и моделей для определения противосудорожной, противоишемической, противогипоксической, нейропротективной, цереброваскулярной, ноотропной и анксиолитической активностей. Описаны методы изучения электрофизиологического механизма противосудорожного действия соединений и биоэлектрической активности в постишемический период.

В главе «Результаты исследования» приведены данные собственных исследований в логической последовательности – начиная со скрининга противосудорожных эффектов и оценки острой нейротоксичности и заканчивая определением особенностей противосудорожных и нейропсихотропных эффектов и установления компонентов механизма действия соединений.

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

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

Диссертационная работа Литвиновой С.А. является завершенным исследованием. Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с требованиями. Материалы диссертации полностью опубликованы в 62 печатных работах, в том числе в 31 статье в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

### **Замечания и вопросы по диссертации**

Работа Литвиновой С.А. является инновационным, многоплановым, логично и грамотно выстроенным исследованием. Принципиальных замечаний нет. Имеются вопросы дискуссионного характера:

1 Обзор литературы содержит подробную информацию об этиологии и диагностике эпилепсии, механизмах эпилептогенеза, применяемых ПЭП. Однако в разделе «Этиология эпилепсии» отсутствует обсуждение роли стресса в генерации судорог. Проблема стресс-чувствительной эпилепсии широко обсуждается в литературе. Стресс является одним из основных факторов, провоцирующих судороги у пациентов с эпилепсией. Известно, что центральные гормоны стресса (КРГ, АКТГ) обладают эпилептогенным действием, а увеличение частоты приступов связано с высоким уровнем кортизола. Показано, что глюкокортикоидные рецепторы индуцируют экспрессию субъединиц ионотропных NMDA-рецепторов. Кортизол является аллостерическим активатором NMDAR и, таким образом, потенцирует механизмы гипервозбуждения нейронов. Стресс провоцирует глутамат-зависимую провоспалительную поляризацию микроглии (асептическое нейровоспаление) и микроглиальную экспрессию воспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ), которые индуцируют экспрессию рецепторов AMPA и подавляют экспрессию ГАМК рецепторов, что приводит к долгосрочным изменениям в нейрональной возбудимости. Эти представления демонстрируют целесообразность оценки влияния потенциальных ПЭП на активность ГГН-оси, стресс-реализующие и стресс-лимитирующие механизмы. Является ли стресс определяющим фактором в эпилептогенезе? Существуют ли валидные модели

стресс-индуцированных судорог? Можно рассматривать исследованные соединения ГИЖ-298 и ГИЖ-272, мишенями которых являются нейроны гипоталамуса, как модуляторы активности ГГН-оси, гиперактивация которой вовлекается в патогенез большинства нейропсихических патологий?

2. В разделе «Материалы и методы», подразделе «Использованные препараты» приведены структурные формулы изучаемых соединений, однако отсутствует анализ структурных особенностей и предполагаемых свойств, анализируемых рядов соединений. Почему именно эти ряды соединений были выбраны для исследования?

3. В разделе «Результаты и их обсуждение» диссертантом представлены разные экспериментальные схемы, примененные к исследуемым препаратам-лидерам в рядах производных оксимов бензоилпиридина (ГИЖ-298), оксимов дибензофуранона (ГИЖ-272, ГИЖ-332), фенилпирролидона (ГИЖ-290). Особенности антиконвульсивного действия ГИЖ-298 детально оцениваются в целой серии моделей судорог, включая модель хронической фокальной эпилепсии, эпилептического статуса, аудиогенной генетически-детерминированной эпилепсии, однако противогипоксическая/противоишемическая нейропротекция, также как антиконвульсивная активность в отношении постишемических судорог не оценивается. Напротив, для препаратов ГИЖ-272 и ГИЖ-332 применяется детальный протокол оценки нейропротективной и антиконвульсивной активности после ишемического и геморрагического инсульта, но используется сокращенный протокол оценки противосудорожной активности (без модели эпилептического статуса). С чем связано применение для каждого соединения-лидера индивидуальной экспериментальной схемы?

4. В списке сокращений отсутствует пояснение к аббревиатуре ГИЖ.

### **Заключение**

Диссертация Литвиновой Светланы Александровны на тему «Разработка оригинальных противэпилептических средств, сочетающих противосудорожные свойства с нейропротективным, прокогнитивным и анксиолитическим эффектами» является законченной научно-квалификационной работой, содержит совокупность теоретических положений, разработанных на основании полученных автором результатов, о спектре фармакологической активности новых оригинальных соединений с противосудорожными свойствами и перспективах их дальнейшей разработки, что можно квалифицировать как крупное научное достижение в фармакологии,

клинической фармакологии. Диссертация полностью соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842), для диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, а Светлана Александровна Литвинова заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Кирова Юлия Игоревна

доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела общей патологии, лаборатории общей патологии нервной системы ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»

Подпись Кировой Ю.И. заверяю

ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»  
125315 Москва, Балтийская ул. 8, bioenerg@mail.ru

