

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Садиковой Натальи Владимировны «Коррекция производными глутаминовой кислоты стрессорных повреждений сердца», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. По данным ВОЗ ежегодно от ССЗ умирает 17,5 миллиона человек. И хотя в последние годы смертность от заболеваний сердца и сосудов в экономически развитых странах значительно снизилась, в России продолжает сохраняться самый высокий уровень преждевременной смертности от заболеваний системы кровообращения.

В представленной работе совершенно верно отмечено, что одним из главных факторов риска развития ССЗ является стресс. В разные возрастные периоды жизни человека устойчивость организма к воздействиям стресса подвержена изменениям. Развивающиеся при старении физиологические изменения сердечно-сосудистой системы, приводят к снижению способности миокарда оптимально реагировать на стрессорные воздействия.

В патогенезе стрессорного повреждения сердца большая роль отводится состоянию стресс-лимитирующих систем. В этой связи, актуален поиск новых эффективных кардиопротекторных лекарственных препаратов, способных активировать стресс-лимитирующие системы, и тем самым ограничивать повреждающее действие стресса.

В качестве потенциальных кардиопротекторных веществ автор обоснованно выбрал производные глутаминовой кислоты. Поскольку в многочисленных экспериментальных и клинических данных показано наличие у глутаминовой кислоты кардиопротекторных, противоаритмических, антигипоксических свойств, а также способности ограничивать процессы перекисного окисления липидов и повышать активность антиоксидантных ферментов.

Все сказанное подчеркивает актуальность выбранной диссертантом темы исследования.

Научная новизна

Полученные в исследовании Садиковой Н.В. результаты и выводы обладают несомненной научной новизной, так как впервые проведен целенаправленный поиск веществ с кардиопротекторным действием среди 9 новых производных глутаминовой кислоты в условиях стрессорного повреждения миокарда, проанализирована зависимость между химической структурой исследуемых веществ и их специфической активностью. Выявлено соединение под лабораторным шифром РГПУ-238, обладающее выраженной способностью ограничивать повреждающее влияние острого и хронического стрессорного воздействия на миокард, о чем свидетельствует его способность повышать функциональные резервы сердца у животных разных возрастных групп и модулировать NO-ергическую систему и ГАМК_A-рецепторы. Автором впервые изучено влияние исследуемого вещества на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия стрессированных животных, на процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в сердце, мембранопротекторные и антигипоксические свойства.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные диссертантом результаты выявленных кардиопротекторных свойств новых производных глутаминовой кислоты могут служить основой для направленного синтеза, дальнейшего поиска и разработки высокоактивных и малотоксичных веществ со стресс- и кардиопротекторной активностью. Обнаруженная способность соединения РГПУ-238 ограничивать негативное влияние стрессорного воздействия на миокард у животных разных возрастных групп свидетельствует о возможности и перспективности разработки на его основе лекарственного препарата для предупреждения стрессорных повреждений миокарда и, очевидно, не только миокарда, так как стрессоустойчивость является одним из основных факторов адаптивности, сохранения здоровья и долгожительства.

Представленные в диссертации научные положения и результаты проведенного исследования используются для лекций и практических занятий студентов кафедр

фармакологии ВолгГМУ, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, интернов и фармацевтических специалистов, проходящих последипломное усовершенствование на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, что является их практическим использованием.

Достоверность и обоснованность результатов и выводов диссертационной работы

Для диссертационной работы автором выбраны современные методики сбора и обработки полученных данных. Результаты исследования получены на достаточном количестве экспериментальных животных. Методы изучения производных глутаминовой кислоты соответствуют руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Дизайн исследования соответствует международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в работе. Все основные положения диссертационного исследования аргументированы и дают основания для дальнейшего изучения кардиопротекторных свойств производных глутаминовой кислоты при стрессорном повреждении миокарда. Выверенные цифровые материалы таблиц и построенных графиков достоверны и не вызывают сомнений. Достоверность полученных результатов подтверждается впечатляющим объемом экспериментов, выполненных на большом количестве животных, а также выбором адекватных параметрических и непараметрических критериев для статистической обработки результатов.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 160 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций, списков сокращений и литературы. Список литературы включает 297 источников, из них 136 отечественных и 161 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 14 рисунками.

Диссертация построена по традиционному типу. Во введении автор обосновывает актуальность темы исследования и степень разработанности проблемы, приводит цель и задачи, поставленные для ее достижения, научную

новизну, теоретическую и практическую значимость, т.е. все формальные положения, предъявляемые к вводной части диссертационной работы.

В четко структурированном обзоре литературы представлены современные данные о проблеме стресса и старения, патогенезе стрессорного повреждения миокарда, приведен подробный анализ публикаций о роли стресс-лимитирующих систем в ограничении развития стресс-реакции. Автором подробно освещены фармакологические свойства глутаминовой кислоты на основе экспериментальных и клинических данных по исследуемой проблеме.

Глава материалы и методы содержит описание экспериментальных групп животных и схем введения веществ, документов и стандартов, а также применяемых методов. Для формирования стресса автором были использованы методики острого иммобилизационно-болевого и хронического стрессирования. Все эксперименты были одобрены комитетом по этической экспертизе доклинических исследований ВолгГМУ. Изучение кардиопротекторных свойств при ингибировании стресс-лимитирующих систем проводили с использованием острого иммобилизационно-болевого стрессирования введением блокаторов NO-синтаз и ГАМК_A-рецепторов. Влияние исследуемого вещества на функциональные резервы сердца у животных разного возраста изучали на модели острого и хронического стрессирования. Формировались 3 группы животных в возрасте 6-ти, 12-ти и 24-х месяцев.

Оценку кардиопротекторных свойств проводили с использованием нагрузочных проб: проба на адренореактивность, нагрузка объемом, изометрическая нагрузка. Регистрация показателей кардиогемодинамики осуществлялась с использованием компьютерного гемодинамического анализатора на базе программы BEAT (Москва, Россия).

Оценка антиоксидантных, противогипоксических, антиагрегантных, эндотелио- и мембранопротекторных свойств исследуемого соединения проводилась с использованием общепринятых методик на модели хронического стрессорного воздействия.

Обработка результатов экспериментов проведена с применением современных пакетов статистических программ с использованием методов непараметрической и

параметрической статистики.

В третьей главе автором приведены результаты скрининга среди 9 новых производных глутаминовой кислоты, вводимых внутривентриально до и после острого иммобилизационно-болевого стрессирования. Оценка функциональных резервов сердца проводилась с использованием пробы на адренореактивность и изометрической нагрузки, что позволило установить наиболее выраженное кардиопротекторное действие диметилового эфира 3-фенилглутаминовой кислоты (соединение РГПУ-238), при последующем изучении которого была определена наиболее эффективная доза, составившая 28,7 мг/кг. Автором установлено, что данное соединение обладает низкой токсичностью и большой широтой терапевтического действия. Выполненный диссертантом подробный анализ зависимости химической структуры производных глутаминовой кислоты и кардиопротекторного эффекта позволяет обоснованно рекомендовать синтез новых веществ со стресс- и кардиопротекторным действием.

В четвертой главе описаны результаты изучения кардиопротекторных свойств соединения РГПУ-238 у животных, подвергшихся острому иммобилизационно-болевому стрессированию, в условиях блокады стресс-лимитирующих систем. В качестве ингибиторов системы оксида азота были выбраны блокаторы индуцибельной (аминогуанидин), нейрональной NO-синтазы (7-нитроиндазол) и неселективный блокатор NO-синтаз – L-NAME. Для ингибирования ГАМК-системы использовался блокатор ГАМК_A-рецепторов – бикикулин. В результате было выявлено, что неизбирательное и селективное ингибирование системы оксида азота, а также ГАМК_A-рецепторов, до стрессорного воздействия приводило к усугублению повреждения миокарда и снижению его функциональных возможностей. Введение стрессированным животным соединения РГПУ-238 способствовало уменьшению негативного действия стресса на миокард, что может быть следствием модулирующего действия NO- и ГАМК-ергической стресс-лимитирующих систем.

В пятой главе представлены результаты исследования кардиопротекторных свойств исследуемого соединения у животных разных возрастных групп, подвергшихся острому и хроническому стрессированию. Согласно полученным

результатам выявлено, что острое и хроническое стрессорное воздействие приводило к снижению инотропных резервов сердца у животных всех возрастных групп. Исследуемое соединение улучшало функциональные резервы сердца у стрессированных животных всех возрастов, но наиболее выражено у 24-х месячных.

В шестой главе представлены результаты изучения механизма кардиопротекторного действия соединения РГПУ-238 на модели хронического стрессирования животных. При оценке эндотелиопротекторных свойств нового производного глутаминовой кислоты, которая проводилась по изменению кровотока в ответ на внутривенное введение специфических анализаторов, была выявлена способность соединения ограничивать развивающееся при стрессе нарушение функции эндотелия. При изучении показателей системы гемостаза у стрессированных животных были выявлены сдвиги в сторону гиперкоагуляции и гиперагрегации. Введение исследуемого соединения способствовало ограничению данных процессов, что свидетельствует о наличии антитромботических свойств в условиях стрессорного воздействия. Диссертантом было установлено наличие противогипоксических свойств соединения РГПУ-238 на мышцах-самцах с использованием модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией. На моделях кислотного и осмотического гемолиза доказано наличие мембранопротекторных свойств. По измерению концентрации продуктов ПОЛ и активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы в митохондриальной фракции сердца, выявлена способность исследуемого соединения ограничивать процессы перекисного окисления липидов и повышать активность антиоксидантных ферментов.

Далее в диссертационной работе следует обсуждение результатов, в котором проведено обоснованное сопоставление полученных данных с литературными. Выводы и научно-практические рекомендации подтверждены полученными результатами, обоснованы и позволяют заключить, что автор решил сформулированные задачи и достиг поставленной цели исследования.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, по материалам которой опубликованы 23 печатные работы, в том числе 8 статей в изданиях,

рекомендованных ВАК РФ, получено 2 патента на изобретения.

Отмечая в целом высокий уровень выполненного исследования, считаю необходимым задать следующие вопросы:

1. Вы позиционируете соединение РГПУ-238 в качестве кардиопротекторного препарата при стрессорных повреждениях сердца, однако, в диссертационной работе нет доказательств повреждения: например, морфологических исследований, определение уровня маркеров повреждения и т.д., Вами описаны только функциональные нарушения сердца.

2. Вы доказали наличие кардио- и эндотелиопротекторных, а также других свойств, соединения РГПУ-238 при стрессорных воздействиях, можно ли предположить, что оно будет оказывать нейро-, нефропротекторное действие, т.е. универсально будет защищать различные органы и системы при чрезвычайных воздействиях?

3. В вашей работе почему-то фигурирует наиболее эффективная доза и исследуемого соединения 28,7 мг/кг, как эта доза образовалась? Для удобства ее можно было бы округлить до 29 и даже до 30 мг/кг. Для чего такая точность? Это имеет какое-то значимое значение?

Заданные вопросы не умаляют достоинств выполненной работы и носят уточняющий или дискуссионный характер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Садиковой Натальи Владимировны «Коррекция производными глутаминовой кислоты стрессорных повреждений сердца» выполненная по руководством чл.-корр. РАН, профессора, доктора медицинских наук Тюренкова Ивана Николаевича и при научном консультировании доктора биологических наук Перфиловой Валентины Николаевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете, является самостоятельной завершенной научно- квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи поиска стресс- и

кардиопротекторных веществ среди производных глутаминовой кислоты.

По актуальности проблемы, научно-практической значимости, новизне исследований, методическому уровню и объему выполненных экспериментов, работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым действующим «Положением о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842) к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Садикова Наталья Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент,
заведующий кафедрой фармакологии Федерального
государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет», доктор медицинских наук,
профессор

М.В. Покровский

Подпись заведующего кафедрой фармакологии
НИУ «БелГУ» д.м.н., профессора М.В. Покровского заверяю

Адрес: Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 851 Телефон: 8 (4722) 30-13-73 E-mail:
mpokrovsky@yandex.ru

11.10.16 г.



Список опубликованных работ, близких тематике диссертационного исследования

1. Даниленко Л.М., Покровский М.В., Корокин М.В. Изучение механизмов кардиопротективного эффекта 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата // Кубанский научный медицинский вестник. - 2016. - №1 (156). - С. 24-26.
2. Сухомлинов Ю.А., Покровский М.В., Конопля А.И. и др. Исследование влияния дигидрокверцетина и настоя цветков лабазника шестилепестного на функциональное состояние миокарда крыс в условиях моделирования эмоционально-иммобилизационного стресса // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2005. - № 2. - С. 209-213.
3. Denisuk T.A., Pokrovskii M.V., Philippova O.V. et al. Endothelio- and cardioprotective effects of HMG-CoA reductase inhibitors under the condition of endotoxin-induced endothelial dysfunction // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2015. - Vol. 6 (5). - P. 1542-1547.
4. Pokrovskiy M.V., Ostashko T.V., Sarajan K.V. et al. Resveratrol, hawthorn extract, dihydroquercetin, rosuvastatin: Common way of cardioprotective effect realization // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2014. - Vol. 5 (6). - P. 1453-1456.