

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Зыбиной Анны Михайловны на тему:
«Противоэпилептические эффекты карбамазепина, включенного в
полимерные наночастицы» по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Актуальность работы. Представленная соискателем работа посвящена важному научному и социально значимому вопросу – поиску и разработке подхода для эффективной терапии эпилепсии, хронического неинфекционного расстройства деятельности мозга, характеризующегося повторяющимися приступами. Известно, что в мире насчитывается около 50 млн случаев эпилепсии, а лечение этой патологии не всегда эффективно и становится более продуктивным, если известна точная причина заболевания. При идиопатической и криптогенной эпилепсии, когда причины не выяснены, лечение основывается на подборе лекарственных препаратов для предотвращения или снижения частоты приступов. В то же время, постоянный прием антиэпилептических препаратов (АЭП) у части пациентов приводит к возникновению лекарственной невосприимчивости. Задачи, поставленные соискателем в работе, а именно: изучение возможного механизма фармакологической резистентности препарата карбамазепина, являющегося «золотым стандартом» в лечении эпилепсии, а также исследование его новой формы, позволяющей преодолеть резистентность препарата, представляются актуальными для увеличения эффективности терапии эпилепсии и решения данного социально значимого вопроса.

Структура диссертации и оценка ее разделов. Диссертационная работа Зыбиной Анны Михайловны выполнена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», изложена на 127 страницах, имеет классическую структуру и содержит разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы.

Работа иллюстрирована 30 рисунками и 18 таблицами. Список литературы включает 137 источников. Работа выполнена на большом экспериментальном материале. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 7 печатных изданиях, в их числе 3 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК, и представлены на международных и отечественных научных конгрессах.

В главе «Введение» автор обосновывает актуальность избранной темы исследования, научную новизну исследования, формулирует цель и задачи исследования. Соискатель делает акцент на возможном вкладе в устойчивость к АЭП белков семейства ABC, в частности, Р-гликопротеина (Pgp), а также выдвигает тезис о том, что взаимодействие карбамазепина (КБЗ) с Pgp не является безусловно доказанным фактом и требует подтверждения. Одной из задач исследования является изучение предполагаемого механизма развития устойчивости к действию КБЗ, а также сравнение противоэпилептического эффекта КБЗ и его наноформы.

В главе «Обзор литературы» соискателем представлен анализ литературных данных по теме исследования, дается описание эпилепсии, известных моделей для изучения этого заболевания. Пристальное внимание уделяется структуре и роли гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в развитии патологии, феномену множественной лекарственной устойчивости, характеристике препарата первого выбора - карбамазепина.

Глава «Материалы и методы» отражает общую методологию исследования. Для решения поставленных в работе задач, автор применял как давно себя зарекомендовавшие, так и современные высокотехнологичные методы и подходы, такие как гистологические и фотометрические методы исследования проницаемости ГЭБ, стандартные поведенческие тесты (тест «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Лабиринт Барнса»), метод регистрации электрической активности коры мозга животных. Автором была выбрана модель для изучения антиэпилептической эффективности препаратов. Методы статистической обработки полученных данных соответствуют требованиям современной науки и не вызывают вопросов.

Глава «Результаты» представляет собой описание полученных результатов исследований и проиллюстрирована рисунками и таблицами. Важно отметить, что представленное исследование проведено с применением широкого спектра трудоемких методов, и полученные результаты охватывают различные аспекты деятельности мозга, регистрируемые в ответ на действие препарата: от оценки проницаемости ГЭБ до оценки тревожности и пространственной памяти животных. Результаты представлены кратко, но достаточно наглядно и убедительно.

Следующие главы, «Обсуждение» и «Заключение», содержат более подробные пояснения к экспериментам и обсуждение полученных результатов, включая ссылки на известные в литературе данные по обсуждаемым вопросам.

В главе «Выводы» соискатель приводит пять положений, которые кратко и убедительно отражают результаты исследований по всем поставленным задачам.

Научная ценность исследования. Проведено исследование изониазиновой модели (ИЗН) для тестирования новой формы карбамазепина и обоснование перспективности ее в качестве дополнения к стандартным моделям для изучения АЭП.

Выявлены значительные отличия в эффективности карбамазепина, включенного в полимерные наночастицы, в сравнении с исходной активной субстанцией. Важно отметить, что принципиальные отличия обнаружены также и в случае использования ингибитора Pgp, верапамила, при этом влияние верапамила на эффективность наносомальной формы КБЗ обнаружено не было, а эффективность КБЗ-НЧ значительно превосходит эффективность КБЗ даже в присутствии ингибитора ABC-транспортера. Этот факт подтверждает вклад Pgp в развитие устойчивости к карбамазепину и свидетельствует о возможности преодоления такой устойчивости с помощью новой лекарственной формы КБЗ в составе наночастиц.

Новизна работы. Впервые проведено подробное изучение состояния ГЭБ на ИЗН модели. Показано, что ИЗН модель характеризуется отсутствием изменений в проницаемости ГЭБ при судорогах, что важно для дальнейшей оценки эффективности антиэпилептических препаратов.

Впервые исследован противоэпилептический эффект наносомальной формы КБЗ и влияние хронического введения КБЗ-НЧ на поведение животных, в частности, на память и тревожность. И в том, и в другом исследовании была выявлена достоверная эффективность КБЗ-НЧ по сравнению с введением КБЗ.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность

Работа выполнена на высоком методическом уровне. Обоснованность и достоверность полученных автором результатов обусловлены постановкой вопросов и формулированием рабочих гипотез. Поставленные задачи соответствуют цели диссертации. Используемые автором экспериментальные объекты, методические приемы и подходы являются адекватными для работ по специальности «Физиология». Достоверность полученных результатов подтверждается применяемыми автором статистическими методами анализа данных. Выводы диссертационного исследования основаны на полученных результатах и полностью их отражают. Результаты диссертационного исследования опубликованы в рейтинговых научных изданиях из списка ВАК, представлены на отечественных и международных конференциях и конгрессах. Автореферат представлен на 26 страницах, иллюстрирован 17 рисунками и 1 таблицей, в сжатой форме отражает суть и результаты диссертационного исследования.

Практическая значимость работы. Разработка новой формы КБЗ для парентерального введения препарата, позволяющей преодолевать устойчивость к карбамазепину при терапии эпилепсии; снижение эффективной дозы и, как следствие, уменьшение побочных эффектов, связанных с хроническим приемом препарата, представляются значительным вкладом в решение одного из социально-значимых вопросов – терапии хронического заболевания мозга, эпилепсии.

Выявленная анксиолитическая активность КБЗ-НЧ потенциально может способствовать расширению области применения препарата в клинической практике.

Недостатки диссертации. К недостаткам диссертационной работы можно отнести легкую небрежность в оформлении работы: рисунки 1-4 содержат надписи на английском языке, хотя логично было бы привести их на русском; сбита нумерация рисунков, или пропущен рисунок 2; в описании исследования КБЗ на ПЗТ-модели не указана доза КБЗ; в таблице 17 есть опечатка – группа ВЕР+КБЗ 30 мг/кг выделена тем же цветом, что и контрольная группа, в то время как в текстовом описании указывается на достоверное увеличение эффективности этой дозы по сравнению с контрольной группой.

В тексте работы встречаются положения, сформулированные не вполне корректно, например, цитату из пункта Научная значимость - «Мы подтвердили частичное взаимодействие КБЗ с транспортером и впервые выявили его отсутствие с КБЗ-НЧ» корректнее было бы сформулировать таким образом: «Проведенные исследования подтвердили наше предположение о вкладе Pgp в развитие устойчивости к карбамазепину, который выражался в снижении эффективной дозы КБЗ на 30% при использовании ингибитора Pgp, и выявили отсутствие влияния Pgp на эффективность КБЗ-НЧ».

Еще хотелось бы отметить, что включение в текст информации о новом исследуемом препарате – КБЗ-НЧ, как то: характеристика частиц, в том числе, процент включения КБЗ, пример расчета вводимых доз, их объема - добавило бы еще больше значимости работу. Представляется целесообразным привести существующие данные по биодоступности КБЗ для мозга, а также ссылки на данные об изменении фармакокинетики и фармакодинамики после включения КБЗ в наночастицы, если таковые имеются. Ссылки на разработки и исследования препаратов в наночастицах ограничены узким кругом исследователей, несмотря на то, что таких авторов много как в России, так и за рубежом, а статей с каждым годом становится все больше.

Заключение. Несмотря на вышеперечисленные недостатки, важно отметить, что диссертация Зыбиной Анны Михайловны является научно-квалификационной работой и отвечает по актуальности, практической значимости, новизне и научному уровню требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание

диссертации соответствует паспорту специальности 03.03.01 — «Физиология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Соискатель Зыбина Анна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 — «Физиология».

Заместитель директора
Института биомедицинских исследований,
ООО «Научно-Исследовательский Центр
«Парк активных молекул»,
Кандидат биологических наук

И.Г. Кондрашева

Подпись И.Г. Кондрашевой удостоверяю:

Директор ИМБИ
ООО НИЦ «Парк активных молекул»
к.б.н.



Е.В. Бондаренко

21 сентября 2018 г

Контактные данные:
ik.biomed@pam-alliance.ru,
тел. (484 39) 97258 / 97338.
+7 (985) 882 94 76

Адрес места работы:
249030, Россия, Калужская область,
г. Обнинск, Киевское шоссе, д 3.
Институт биомедицинских исследований,
ООО «Научно-Исследовательский Центр «Парк активных молекул»