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

К защите представлена содержательная, оригинальная работа высокого уровня, порождающая новые научные идеи и имеющая большой практический потенциал.

Актуальность работы

Работа актуальна исходя из теоретической и практической значимости работы. Распространенность эпилепсии составляет до 1% населения земли, и число больных ежегодно увеличивается на 2,5 миллиона. Для предотвращения приступов больным длительно назначаются противоэпилептические препараты (ПЭП) – антиконвульсанты. У 30-40% пациентов с эпилепсией возникает фармакорезистентность. Решение проблемы фармакорезистентности – актуальнейшая проблема современной эпилептологии. Считается, что при возникновении резистентности к ПЭП задействован неселективный механизм, опосредованный через семейство ABC (ATP binding cassette)-транспортеров, в частности Р-гликопротеин (P-gp). Экспрессия Р-gp значительно повышается в эпилептогенных тканях, что в свою очередь, приводит к снижению концентрации ПЭП в этой области. Если взаимодействие некоторых противосудорожных препаратов с транспортером Р-gp уже доказано, то их взаимодействие с карбамазепином (КБЗ) до сих пор недостаточно изучена.

Структура диссертации и оценка ее разделов

Работа имеет классическую, традиционную структуру и содержит разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Глава 1, 2, 3, Обсуждение, Заключение, Выводы, Список литературы.

Во введении отражена актуальность темы, сформулированы цели, задачи работы. В главе «Обзор литературы» представлены общие сведения об эпилепсии, приступах, патогенезе, классификации эпилепсии, экспериментальных моделях, структуре и проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), о фармакорезистентности эпилепсии и ее взаимосвязь с Р-гликопротеином, противоэпилептическом препарате карбамазепин и его влиянии на поведение, о наночастицах.

В главе «Материалы и методы» отражены исследования эффективности карбамазепина на пентилентетразоловой (ПТЗ)-модели, гистологические исследования проницаемости ГЭБ, фотометрическая оценка проницаемости ГЭБ.

В первой главе рассматривается эффективность карбамазепина на ПТЗ-модели. Показано, что для быстрого скрининга ПЭП необходимо использовать несколько хемоконвульсантов с различными механизмами действия, особенно это необходимо для препаратов, механизм действия которых связан с блокадой быстрых натриевых каналов, и эффективность которых невозможно выявить с помощью ПТЗ-тестирования. все больше находит применение изониазидовой (ИЗН)-модель эпилепсии как дополнение к ПТЗ. Гистологические и фотометрические исследования проницаемости ГЭБ показали, что ИЗН-модель эпилепсии является перспективным дополнением к ПТЗ-модели. ИЗН-модель обладает всеми преимуществами ПТЗ-модели и позволяет выявить эффективность тех препаратов, механизм действия которых связаны с блокадой натриевых каналов, и, в частности, карбамазепина.

Во второй главе рассматривается эффективность противоэпилептического действия нанокapsулированной формы карбамазепина (КБЗ-НЧ). Показано, что включение карбамазепина в наночастицы позволяет снизить эффективную дозу до 30-ти раз.

Работа имеет классическую, традиционную структуру и содержит разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Глава 1, 2, 3, Обсуждение, Заключение, Выводы, Список литературы.

Во введении отражена актуальность темы, сформулированы цели, задачи работы. В главе «Обзор литературы» представлены общие сведения об эпилепсии, приступах, патогенезе, классификации эпилепсии, экспериментальных моделях, структуре и проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), о фармакорезистентности эпилепсии и ее взаимосвязь с Р-гликопротеином, противоэпилептическом препарате карбамазепин и его влиянии на поведение, о наночастицах.

В главе «Материалы и методы» отражены исследования эффективности карбамазепина на пентилентетразоловой (ПТЗ)-модели, гистологические исследования проницаемости ГЭБ, фотометрическая оценка проницаемости ГЭБ.

В первой главе рассматривается эффективность карбамазепина на ПТЗ-модели. Показано, что для быстрого скрининга ПЭП необходимо использовать несколько хемоконвульсантов с различными механизмами действия, особенно это необходимо для препаратов, механизм действия которых связан с блокадой быстрых натриевых каналов, и эффективность которых невозможно выявить с помощью ПТЗ-тестирования. все больше находит применение изониазидовой (ИЗН)-модель эпилепсии как дополнение к ПТЗ. Гистологические и фотометрические исследования проницаемости ГЭБ показали, что ИЗН-модель эпилепсии является перспективным дополнением к ПТЗ-модели. ИЗН-модель обладает всеми преимуществами ПТЗ-модели и позволяет выявить эффективность тех препаратов, механизм действия которых связаны с блокадой натриевых каналов, и, в частности, карбамазепина.

Во второй главе рассматривается эффективность противоэпилептического действия нанокапсулированной формы карбамазепина (КБЗ-НЧ). Показано, что включение карбамазепина в наночастицы позволяет снизить эффективную дозу до 30-ти раз.

Противоэпилептическое действие КБЗ-НЧ не отличается от «Финлепсина» - пероральной формой препарата КБЗ. Влияние скорости всасывания и метаболизма в печени приводит к увеличению пероральной дозы в 10 раз по сравнению с внутривенной формой. Однако, КБЗ-НЧ дополнительно снижает дозу еще в 30 раз. И это снижение обеспечивается именно за счет инкапсуляции КБЗ в наночастицы.

Анализ электрокортикограмм (ЭКоГ) животных показал, что КБЗ в дозе 30 мг/кг, а также КБЗ-НЧ в дозе более 1 мг/кг купирует не только внешние проявления судорог, но и изменения в электрической активности головного мозга.

Хроническое введение КБЗ и КБЗ-НЧ сопровождалось снижением тревожности, повышение исследовательской активности и улучшение пространственной памяти. Это свидетельствует о повышении биодоступности КБЗ для головного мозга, что приводит к усилению нормотимических свойств препарата.

В третьей главе данные диссертанта подтверждают, что блокада Р-гликопротеина усиливает антиэпилептический эффект карбамазепина за счёт облегченного проникновения его активных метаболитов в головной мозг. Р-gp транспортер играет существенную роль в снижении проницаемости ГЭБ для КБЗ, значительно (на 30%) ограничивая его поступление в мозг. При этом, эффективная доза КБЗ-НЧ при внутривенном введении снижается не на 30%, а в 30 раз по сравнению с КБЗ. Следовательно, помимо участия Р-gp есть и другие причины для такого значительного снижения дозы. Показано, что на эффективность препарата оказывает существенное влияние не только количество, но и его распределение в тканях. Вероятно, эта разница и приводит к повышению эффективности КБЗ-НЧ по сравнению с КБЗ, и, следовательно, к снижению дозы. Диссертант предполагает, что может существовать направленный транспорт КБЗ-НЧ в очаг эпилепсии, так как эта область обладает высокой метаболической активностью.

Оказалось, что хронический прием препарата КБЗ-НЧ приводил к снижению тревожности у крыс, повышению двигательной и исследовательской активности и улучшение пространственной памяти животных.

Научная ценность исследования

Остановлюсь в этом разделе отзыва на важной идее. Поскольку Р-гр является одним из главных факторов в возникновении резистентности, следует искать способы доставки препаратов, минуя Р-гр. Наночастицы, покрытые сурфактантом, способны проникать в головной мозг, минуя Р-гр. Показано форма КБЗ на наночастицах не только позволяет перевести препарат в растворимую форму, но и осуществлять адресную доставку препарата в головной мозг.

Новизна работы

Новизна работы очевидна:

1. Впервые подробно изучено состояния ГЭБ на изониазидовой модели эпилепсии. Выявлено отсутствие нарушений ГЭБ во время судорог.
2. При сравнении препаратов КБЗ и КБЗ-НЧ, последний показал повышенную противосудорожную эффективность.
3. Впервые исследовалось противозепилептическое действие КБЗ-НЧ, и было выявлено снижение минимальной противозепилептической эффективной дозы в 30 раз. Также было проведено исследование о взаимодействии исследуемых препаратов с Р-гр. Диссертант подтвердил частичное взаимодействие КБЗ с транспортером и впервые выявил его отсутствие с

КБЗ-НЧ, что позволяет предположить возможность применения КБЗ-НЧ при фармакорезистентной форме эпилепсии.

4. Впервые было показано влияние хронического приема КБЗ-НЧ на поведение. Исследуемая форма улучшает память и снижает тревожность у животных. Полученные эффекты при применении формы КБЗ-НЧ могут позволить расширить область применения этого препарата в клинической практике.

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

Диссертация выполнена на высоком методическом и теоретическом уровне. Для верификации полученных результатов применены адекватно подобранные методы статистического анализа. Все изложенные научные положения, выводы, рекомендации предметно обоснованы, удовлетворяют требованиям научной доказательности и достоверны.

Практическая значимость работы

Практическая значимость работы совершенно очевидна. Препарат КБЗ-НЧ имеет множество преимуществ по сравнению с КБЗ и имеет потенциал для клинического применения, особенно при фармакорезистентных формах заболевания; позволяет перевести КБЗ в растворимую форму; препарат обладает положительными эффектами на поведение, что потенциально может расширить область его применения в клинической практике и использовать его для лечения других нейродегенеративных заболеваний.

Недостатки диссертации

Недостатков и принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы нет.

Заключение

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного