

УТВЕРЖДАЮ



И.о. директора

ФГБУ «ВНИИ ГПЭЧ» ФМБА России

д.м.н., профессор

А.С. Радилов

2025г.

М.П.

ОТЗЫВ

ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Мелеховой Александры Сергеевны

«Экспериментальное обоснование применения средств лечения судорожного синдрома, вызываемого карбаматами», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.4. Токсикология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационное исследование Мелеховой Александры Сергеевны посвящено актуальному научному направлению в области токсикологии: разработке методических подходов и поиску эффективных средств, предназначенных для купирования проявлений интоксикации обратимыми ингибиторами холинэстераз.

Известно, что острые интоксикации ингибиторами холинэстераз, развивающиеся при преднамеренных или случайных бытовых отравлениях инсектицидами, нарушениях техники безопасности при хранении и использовании агрохимикатов, внештатных ситуациях или авариях на производствах, передозировке лекарственных средств, террористических актах составляют до 50 % случаев госпитализации по причине отравления, могут приводить к летальным исходам, продолжительной утрате трудоспособности, а в ряде случаев к развитию инвалидности. Очевидно, что такие случаи являются причиной существенного экономического ущерба. При этом антидоты, разработанные для военных нужд (Атропин для снижения летальности, препараты бензодиазепинового ряда для купирования судорожного синдрома), имеют существенный недостаток — их своевременное применение чаще всего невозможно, а отложенное ассоциировано со значительным снижением эффективности и увеличением числа рефрактерных к бензодиазепиновым препаратам судорог. Отдельную проблему составляют

Вх. № 61

«22» сентября 2025г.

ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России

рецидивы судорог при длительной транспортировке пострадавших, поскольку в таких случаях повторное введение антидотов малоэффективно. Необходимо также учитывать, что подавляющее большинство отравлений, в патогенезе которых ведущим фактором является ингибирование холинэстераз, в настоящее время связано с воздействием обратимых ингибиторов, в первую очередь различных производных карбаминовой кислоты (карбаматов). Помимо очевидного различия в характере токсических проявлений, существует ряд отличий в патогенетических механизмах действия карбаматов в сравнении с необратимыми ингибиторами холинэстераз, что необходимо учитывать при разработке новых лекарственных средств.

Таким образом, поиск и экспериментальное обоснование применения средств лечения судорожного синдрома, вызываемого карбаматами, является актуальной и современной задачей.

Степень разработанности темы исследования

При проведении доклинических исследований лекарственных средств купирования судорожного синдрома при интоксикации ингибиторами холинэстераз применяются экспериментальные модели на основе дихлордифенилтрихлорметилметана (ДДТ), а также малодоступных большинству отечественных исследователей диизопропилфторфосфата (ДФФ) и боевых отравляющих веществ (Зоман, газы V_x).

В научной литературе представлены отдельные этапы разработки новых средств купирования судорожного синдрома при интоксикации ингибиторами холинэстераз, в том числе на основе амидных и некоторых других производных вальпроевой кислоты, однако ни одно из подобных соединений не зарегистрировано как лекарственный препарат с показаниями к применению при судорогах токсического генеза. Встречается описание новых соединений с мультитаргетной специфической активностью, например, М-холино-блокирующими и глутамат-блокирующими свойствами, однако в клинической практике они не применяются. Необходимо отметить, что во многих исследованиях специфическая активность всех разрабатываемых соединений тестировалась либо на литий-пилокарпиновой модели (не воспроизводящей все эффекты, наблюдаемые при отравлении ингибиторами холинэстераз) либо с применением необратимых ингибиторов холинэстераз, что не позволяет в полной мере оценить их эффективность при интоксикации обратимыми ингибиторами холинэстераз.

Вопрос отложенных неврологических нарушений некоторыми авторами до сих пор рассматривается как дискуссионный (прямое воздействие токсиканта или проявление посттравматического синдрома), в основном, применяется симптоматическая терапия.

Таким образом, проведение выполненного научного исследования является своевременным и обоснованным.

Научная новизна работы

Новизна проведенного исследования заключается в выявлении особенностей действия обратимого ингибитора холинэстераз (фенилкарбамата) на различные органы и системы живого организма в сопоставлении с традиционно используемыми моделями оценки судорожного синдрома. Установлено, что развивающийся у крыс при интоксикации фенилкарбаматом судорожный синдром отличается приемлемой воспроизводимостью, его ключевые параметры и ряд сопутствующих изменений биохимических показателей сопоставимы с симптомокомплексом, наблюдаемым при интоксикации ингибиторами холинэстераз у человека. Продemonстрировано, что даже при отсутствии выраженных нарушений в поведении животных, переживших период острой интоксикации, сопровождавшейся генерализованным судорожным синдромом, длившимся не более полутора часов, в головном мозге сохраняются и в ряде случаев прогрессируют явления нейровоспаления и нейродегенерации, выявляются нарушения ряда биохимических показателей крови, сохраняющиеся не менее 2-3 недель. Выявленное отсутствие прямой корреляции между степенью угнетения активности ацетилхолинэстеразы, выраженностью и продолжительностью судорожного синдрома при отравлении фенилкарбаматом дополнительно подтверждает, что острые интоксикации обратимыми ингибиторами холинэстераз являются сложным симптомокомплексом, значительно растянутым во времени и требующим не только обязательной медикаментозной коррекции в остром периоде, но и профилактики либо восстановительной терапии в дальнейшей перспективе.

В сравнимых условиях и на адекватной экспериментальной модели изучена эффективность различных лекарственных средств, перспективных для дальнейшей разработки более эффективных лекарственных препаратов для терапии острой интоксикации обратимыми ингибиторами холинэстераз. Выполнено сравнение оригинальных соединений (аминоэфир вальпроевой кислоты), а также соединения с известной мультитаргетной активностью, но не применяемые в

терапии токсического судорожного синдрома. В результате сравнения эффектов четырех оригинальных аминокэфиров выявлено соединение, превосходящее по своей противосудорожной эффективности бензодиазепин и атропин. Продемонстрирована высокая противосудорожная активность мультитаргетного Карамифена при интоксикации соединением из группы карбаматов.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе выявлены особенности патогенеза острой интоксикаций обратимым ингибитором холинэстераз (фенилкарбаматом), позволяющие более эффективно разрабатывать новые средства терапии острого периода и профилактики осложнений. Определена противосудорожная эффективность оригинальных аминокэфиров вальпроевой кислоты, перспективных для дальнейшей разработки фармацевтической субстанции. Установлено, что Карамифен, отличающийся нейромедиаторным действием, может служить основой для разработки новых средств терапии генерализованного судорожного синдрома при отравлении соединениями из группы карбаматов. Показано, что несмотря на обратимость ингибирования холинэстераз и возможность самопроизвольного прекращения судорог у переживших острый период интоксикации карбаматами, необходимо обследование и купирование последствий отравления, выражающихся в развитии обменных нарушений провоспалительной направленности и нейровоспаления в тканях мозга. Экспериментальная модель судорожного синдрома, разработанная в ходе выполнения диссертационного исследования, может применяться при оценке эффективности новых средств терапии интоксикации карбаматами.

Степень достоверности и апробации полученных научных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность результатов исследования не вызывает сомнений. Она обеспечена продуманным дизайном исследования, достаточным количеством животных, использованных в экспериментах, и применявшихся методов исследования, как обязательных (оценка ключевых параметров судорожного синдрома), так и дополнительных (расширенные биохимические исследования, включая изучение про/антиоксидантной системы). При анализе полученных результатов использовались принципы доказательной медицины и адекватные задачам методы статистической обработки. Положения, выносимые на защиту, соответствуют сформулированной цели и задачам и подтверждаются результатами, изложенными в диссертации. Основные результаты исследования опубликованы в

8 научных журналах включенных в перечень ВАК РФ, получено 2 патента Российской Федерации на изобретения. Результаты диссертационного исследования включены в методические рекомендации, утверждённые ФМБА России, внедрены в учебный процесс кафедры военной токсикологии и медицинской защиты федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации. Диссертация выполнена в рамках реализации плановых тем научно-исследовательских работ ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России с 2015 по 2023 год и соответствует паспорту научной специальности 3.3.4. Токсикология.

Структура, содержание и оформление диссертации

Результаты диссертации представлены на 186 страницах машинописного текста, иллюстрированы 56 рисунками и 67 таблицами. Работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, основной части (обзор литературы, материалы и методы исследования, три главы, посвященные описанию результатов исследований, заключение), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, а также списка литературы из 160 источников.

В разделе **Введение** обоснована актуальность и значимость выбранных задач на основе анализа современных тенденций и научных публикаций по разработке и тестированию новых средств терапии при отравлении карбаматами. Цель и задачи, положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость четко сформулированы. Обоснована степень достоверности и представлена апробация результатов исследования, личный вклад автора, структура и объем диссертационного исследования.

Глава 1 посвящена обзору научной литературы о современных представлениях по основным проявлениям и патогенетическим механизмам токсического судорожного синдрома, с более подробным описанием его особенностей при острых отравлениях веществами антихолинэстеразного действия. Далее описаны методы терапии токсического судорожного синдрома, применяемые при острых отравлениях веществами антихолинэстеразного действия, а также способы профилактики неврологических нарушений. В процессе подготовки данного раздела был осуществлен всесторонний анализ обширного массива научной литературы, включающего как классические труды ведущих

российских и зарубежных исследователей в соответствующей области, так и публикации, появившиеся в последние годы. В основу анализа были положены методологические принципы, обеспечивающие высокий уровень объективности и научной обоснованности выводов.

Глава 2 посвящена применявшимся в работе материалам и методам. Представлен поэтапный дизайн исследования. Перечислены ключевые характеристики использованных токсических соединений, вызывающих развитие генерализованного судорожного синдрома у лабораторных животных, а также препаратов сравнения и изученных средств лечения. В работе применялась оценка физического состояния животных и их поведения после воздействия токсикантами, определялись параметры судорожного синдрома (в остром периоде интоксикации), проводился анализ крови для выявления изменений гематологических и биохимических показателей, а также гистологические исследования, полученные результаты обрабатывались современными методами статистического анализа. Широкий спектр использованных в работе методов подтверждает высокую квалификацию автора и позволяет в полной мере решить сформулированные научные задачи.

В главе 3 представлены результаты собственных исследований по разработке новой экспериментальной модели судорожного синдрома на основе фенилкарбамата в сравнении с уже существующими моделями судорожной активности, применяемыми при изучении характера токсического действия ингибиторов ацетилхолинэстеразы. Представлены результаты определения количественных характеристик острой токсичности фенилкарбамата, описаны основные характеристики судорожного синдрома, развивающегося при острой интоксикации (выраженность, продолжительность, летальность), проведена оценка поведенческих, нейрофизиологических и вегетативных функций у крыс, подвергшихся токсическому действию (тест «Открытое поле», тест УРПИ, тест «Сила хвата», изучение ЭКГ, АД), результаты гистологического исследования головного мозга, как основной мишени поражения. Оценены гематологические и биохимические показатели крови, включая исследование активности ацетилхолинэстеразы в крови и в тканях головного мозга через разные промежутки времени. Проведено изучение показателей про/антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в крови крыс. К достоинствам представленных результатов следует отнести валидацию новой экспериментальной судорожной

модели, по показателю «Прецизионность» (межгодовая): продемонстрированы удовлетворительные результаты, позволяющие рекомендовать данную модель судорожного синдрома как пригодную для выполнения токсикологических исследований.

В результате проведенных исследований установлено, что интоксикация фенилкарбаматом сопровождается развитием сложного симптомокомплекса, часть проявлений которого не связана с прямым воздействием токсиканта на холинэстеразы и значительно растянута во времени, при этом проявления подострой воспалительной реакции могут стимулировать дальнейшее повреждение нервных тканей и формирование неврологических нарушений у выживших. Эти данные имеют важное значение для разработки эффективных стратегий лечения и профилактики пост-интоксикационных осложнений.

Глава 4 посвящена сравнительному изучению выбранных для терапии перспективных соединений с разными механизмами действия и сопоставлению их эффективности с официальным антидотом, применяющимся при отравлении антихолинэстеразными веществами (Атропин) и классическим противосудорожным препаратом бензодиазепинового ряда (Реланиум) на разработанной экспериментальной модели. Продemonстрировано, что наиболее выраженной противосудорожной эффективностью, превосходящей стандартные средства купирования судорожного синдрома при отравлении ингибиторами холинэстераз, отличаются лекарственные средства – Карамифен и образец аминоксифира вальпроовой кислоты (АВК) №3. В эксперименте показано эффективное купирование судорог и отдельные проявления защитных свойств перечисленных средств по отношению к нехолинергическим проявлениям нейровоспаления и апоптоза, приводящим к развитию неврологических нарушений в отдаленной перспективе. Это обосновывает перспективность дальнейшей разработки новых эффективных средств терапии острой интоксикации ингибиторами холинэстераз.

Глава 5 содержит материалы по сравнительному изучению и оценке влияния известных лекарственных препаратов, обладающих ноотропным, нейропротективным действием, таких как Мемантин, Мексидол, Ноопепт, Циклодол на поведение и двигательную активность в отсроченный период после отравления фенилкарбаматом. Показано, что осложнения, формирующиеся в центральной нервной системе после острой интоксикации ингибитором холинэстераз в виде нейродегенеративного повреждения, могут становиться менее

выраженными при применении Ноопепта и Мексидола.

В заключении обобщены полученные результаты и изложены основные итоги проведенного исследования. Определены перспективы дальнейшей разработки темы.

Шесть выводов и практические рекомендации обоснованы, полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Диссертационное исследование оставляет положительное впечатление. В качестве замечаний можно выделить следующее:

1. В рамках разработки модели и изучения особенностей интоксикации обратимым ингибитором холинэстеразы, неплохо было бы изучить гендерные различия.

2. При разработке новых подходов к терапии, представляет интерес изучение эффектов комбинированного применения новых лекарственных средств.

В порядке дискуссии хотелось бы получить ответы на вопросы, возникшие при изучении материалов диссертации:

1. В чем именно заключаются недостатки существующих экспериментальных моделей оценки судорожного синдрома при интоксикации обратимыми ингибиторами холинэстераз?

2. Эффективно ли, по вашему мнению, при купировании судорожного синдрома использование комбинации противовоспалительных средств с веществами ноотропного действия?

Заключение. Диссертация Мелеховой Александры Сергеевны на тему «Экспериментальное обоснование применения средств лечения судорожного синдрома, вызываемого карбаматами», является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача современной токсикологии – получены новые данные подтверждающие перспективность разработки противосудорожных средств на основе аминоксифиров вальпроевой кислоты при интоксикации карбаматами.

По своей актуальности, новизне, объему проведенных исследований, методическому уровню, теоретической и практической значимости, публикациям диссертация Мелеховой Александры Сергеевны «Экспериментальное обоснование применения средств лечения судорожного синдрома, вызываемого карбаматами» соответствует пунктам 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.4. Токсикология.

Отзыв обсужден на заседании Ученого совета ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (протокол № 6 от 20.08.2025 г.).

вед. науч. сотр., д.м.н., профессор,
специальность – 11.00.17. Гигиена

С.А. Горбанёв

зав. лабораторией,
к.м.н., ст. науч., сотр.,
специальность – 3.3.4. Токсикология

А.В. Земляной

«20» августа 2025 года

Подписи С.А. Горбанёва и А.В. Земляного заверяю

/ Начальник отдела кадров

«20» августа 2025 года



Кускова Лариса Васильевна

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России)

188663, Ленинградская область, Всеволожский м. р-н, Кузьмоловское г.п.,

г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, зд. 6/2, корп. 93

т/факс (812); (812) 449-61-68; 449-61-77; (812) 606-62-80; (812) 606-62-83

E-mail: gpech@fmbamail.ru; niigpech@rihophe.ru