

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, Афанасьева Василия Владимировича на диссертацию Мелеховой Александры Сергеевны «Экспериментальное обоснование применения средств лечения судорожного синдрома, вызываемого карбамидами», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.4. Токсикология в диссертационный совет 68.1.005.01, созданный на базе ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Мелеховой Александры Сергеевны посвящена решению актуальной задачи – поиску эффективных средств лечения судорожного синдрома в результате острых отравлений карбамидами. Известно, что, несмотря на действующий запрет на производство и хранение боевых отравляющих веществ, содержащих в своем составе ингибиторы холинэстераз, количество острых интоксикаций данной группой соединений во всем мире достаточно велико и продолжает расти. При этом всё большую актуальность приобретают отравления не необратимыми (фосфорорганическими соединениями), а именно обратимыми ингибиторами холинэстераз, в первую очередь производными карбаминовой кислоты (карбамидами). Причина данного феномена заключается с одной стороны в достаточно широкой доступности названного класса соединений, поскольку карбаматы входят в состав агрохимии (пестициды, инсектициды), используются на ряде производств, а также все чаще применяются в фармакологии как активный компонент новых лекарственных средств либо как носитель для таргетной терапии. Другой причиной является ряд недостатков существующей антидотной терапии, разрабатывавшейся в первую очередь для противодействия боевым отравляющим веществам. Введение атропина и бензодиазепина в первые минуты после воздействия позволяет достаточно эффективно снизить летальность и купировать судороги у военного контингента. Однако в гражданских условиях, когда необходимо не просто поддержать боеспособность, но и профилактировать отдаленные неврологические нарушения, и особенно в случаях отложенного применения антидотов, эффективность данных веществ значительно снижается. Дополнительной проблемой является ряд различий в механизмах действия на различные органы и системы у необратимых и обратимых ингибиторов

Вх. № 60

«17» сентября 2025 г.

ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России

холинэстераз при фактическом отсутствии экспериментальных моделей, воспроизводящих интоксикацию последними.

Таким образом, экспериментальное исследование патогенеза острой интоксикации карбаматом и разработка новых лекарственных средств, перспективных для повышения эффективности её терапии является актуальной задачей.

Научная новизна работы

Новизна проведенного исследования заключается в выявлении особенностей воздействия фенилкарбамата на органы и системы живого организма в сравнении с другими веществами судорожного действия, традиционно используемыми при моделировании судорожного синдрома в доклинических исследованиях. Впервые продемонстрировано, что производное карбаминовой кислоты (фенилкарбамат) позволяет стабильно воспроизводить судорожный синдром у крыс, соответствующий по ряду параметров, сопутствующих биохимических изменений судорогам, наблюдаемым при интоксикации ингибиторами холинэстераз у человека. Продemonстрировано, что возникающие при интоксикации и сохраняющиеся значительное время после воздействия фенилкарбамата на холинэстеразы повреждения тканей мозга не имеют выраженной взаимосвязи с поведенческой активностью крыс в тесте на условный рефлекс пассивного избегания, широко применяющимся в доклинических исследованиях противосудорожных средств и более того – активность ингибирования ацетилхолинэстеразы не имеет четкой взаимосвязи с судорогами (подавление активности фермента наблюдается и после полного их прекращения). Таким образом, продемонстрировано, что действие карбамата на организм является комплексным, запускаемые во время и после полного прекращения судорог патологические процессы не связаны только с его ингибирующей активностью, что необходимо учитывать при разработке средств терапии и профилактики нежелательных последствий острой интоксикации.

Впервые проведено сравнительное изучение соединений различных фармакологических групп, перспективных для разработки новых средств купирования судорожного синдрома при отравлении ингибиторами холинэстераз и

их сопоставление с эффективностью стандартной антидотной и противосудорожной терапии. Продemonстрировано, что вещества Карамифен, аминоксифир вальпроевой кислоты №3 имеют преимущество в эффективности по сравнению с бензодиазепином и атропином, которые купируют только отдельные проявления интоксикации карбаматом. Выявлено, что, несмотря на более выраженное положительное влияние на целостность ткани мозга при введении Ноопепта и Мексидола после токсиканта, данные вещества менее выражено влияют на поведение животных в эксперименте, что также подтверждает сложность и многофакторность патогенеза интоксикаций обратимыми ингибиторами холинэстераз, а также механизмов формирования неврологических нарушений в отдаленной перспективе.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость проведенного исследования заключается в выявлении новых особенностей патогенеза острой интоксикаций обратимыми ингибиторами холинэстераз на экспериментальной модели с применением нового модельного токсиканта (фенлкарбамата) а также в обосновании новых направлений в разработке средств фармакологической коррекции острых интоксикаций карбаматами и средств профилактики неврологических нарушений, формирующихся после прекращения судорог.

Практическая значимость проведенного исследования состоит в разработке новой экспериментальной модели на основе фенилкарбамата, предназначенной для доклинических исследований новых лекарственных средств терапии острых интоксикаций ингибиторами холинэстераз, а также в подтверждении необходимости расширения показаний к применению Карамифена, в обосновании дальнейшей разработки фармацевтической субстанции аминоксифира вальпроевой кислоты и в установлении эффективности дополнительного применения Ноопепта и Мексидола у выживших для профилактики неврологических нарушений.

Степень обоснованности и достоверности полученных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность исследования обусловлена использованием адекватной цели и задачам методологии, включающей работу с большой группой лабораторных животных (900 крыс), применение современных методов исследования, продуманный дизайн и регистрацию результатов экспериментов, применение современных методов статистической обработки полученных количественных и качественных показателей. Все исследования автора научно обоснованы. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из материалов диссертации. Положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют цели и задачам исследования. Материалы диссертации опубликованы в 8 печатных работах включенных в перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, получено 2 патента РФ, выпущена и утверждена ФМБА России 1 монография, что подтверждает достоверность и высокую научную значимость проведенного исследования.

Структура, содержание и оформление диссертации

Результаты диссертационной работы изложены на 186 страницах машинописного текста, иллюстрированы 67 таблицами и 56 рисунками. Работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, главы с изложением материалов и методов исследования, трёх глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы.

ВВЕДЕНИЕ обосновывает актуальность и значимость выбранной проблематики на основе анализа современных тенденций и научных публикаций. Сформулированы цель и соответствующие задачи, определены новизна, теоретическая и практическая значимость, описана методология работы, представлены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробации результатов, указан личный вклад автора, структура и объем диссертационного исследования.

ГЛАВА 1 посвящена обзору научной литературы по направлению

исследований. Глава поделена на три части, первая из которых посвящена описанию основных разновидностей, характеристик и проявлений токсического судорожного синдрома. Во второй части рассматриваются и анализируются литературные источники, посвященные проблеме интоксикаций ингибиторами холинэстераз. В третьей части дается перечисление и краткое описание подходов к терапии основных проявлений интоксикации ингибиторами холинэстераз, а также к профилактике нередко развивающихся впоследствии неврологических нарушений у пострадавших. При написании данного раздела использованы как классические труды российских и зарубежных исследователей, так и новые публикации в количестве, достаточном для обоснования сути проблемы и выявления задач, требующих решения.

ГЛАВА 2 посвящена описанию материалов и методов исследования. Представлен и визуализирован в виде схем поэтапный дизайн исследования, приведено описание использовавшихся в работе судорожных агентов, фармакологических средств купирования судорожного синдрома при острой интоксикации, а также средств профилактики неврологических нарушений у выживших. Дано достаточно подробное описание использованных в работе животных и условий их содержания. Представлено описание использовавшихся в работе тестов, предназначенных для оценки характеристик судорожного синдрома, физиологических показателей состояния животных, поведенческих особенностей, гематологических и биохимических показателей, а также применявшихся гистологических исследований и методов статистической обработки результатов. Выбранные материалы и методы соответствуют поставленной цели и задачам, демонстрирует высокую квалификацию автора, обеспечивают доказательность результатов и описаны в объеме, достаточном для последующего воспроизведения.

ГЛАВА 3 содержит подробное описание разработки новой экспериментальной модели судорожного синдрома на основе фенилкарбамата. При проведении работ оценивалась летальность, основные характеристики судорожного синдрома, поведение животных, проводился гистологический анализ внутренних органов, оценка гематологических параметров, активности ацетилхолинэстеразы в крови и тканях головного мозга, целого ряда

биохимических показателей, характеризующих состояние различных органов и систем. К достоинствам описанных результатов следует отнести универсальность разработанной модели – она позволила выявить некоторые особенности патогенеза интоксикации карбаматами, применима для скрининга как средств купирования судорожного синдрома при острой интоксикации, так и средств профилактики отложенных неврологических нарушений, поскольку наблюдения и исследования осуществлялись в нескольких временных отрезках. В сравнении с общепризнанными экспериментальными моделями судорожного синдрома с применением других судорожных агентов, подтверждено, что основные характеристики разработанной модели на основе фенилкарбамата соответствуют требованиям, предъявляемым к экспериментальным моделям для проведения доклинических исследований. Продemonстрировано, что интоксикация фенилкарбаматом – сложный патогенетический процесс, ряд проявлений которого не только наблюдается в течении как минимум двух недель после полного прекращения судорог, но и может усиливаться, влияя на функции печени и некоторые обменные процессы, а также на состояние тканей мозга, что необходимо учитывать при разработке средств лечения и профилактики осложнений. Необходимо отметить, что ранее экспериментальные модели на основе обратимых ингибиторов холинэстераз в принципе не были описаны и разработка новой, легко воспроизводимой модели на основе описанного и запатентованного химического соединения из группы карбаматов является весомым вкладом в практику доклинических исследований.

ГЛАВА 4 содержит описание результатов сравнительного исследования противосудорожной эффективности ряда соединений в сравнении с рекомендованными антидотами при использовании разработанной экспериментальной модели на основе фенилкарбамата. При этом в исследовании применялись как средства с ранее установленной противосудорожной активностью при интоксикации ингибиторами холинэстераз, но, по тем или иным причинам, не выпускаемые как официальные препараты с соответствующими показаниями к применению, так и оригинальные химические соединения, в первую очередь аминокэфир вальпроевой кислоты. Продemonстрировано, что соединения с

предполагаемой или доказанной мультитаргетной активностью (один из изученных аминоэфиров и Карамифен) отличаются большей эффективностью как с точки зрения эффективности купирования судорог по основным критериям их оценки, так и с точки зрения влияния на системные обменные процессы в организме, по сравнению с монотерапией Атропином или Реланиумом (соединение из группы бензодиазепинов). Полученные результаты обосновывают необходимость дальнейшей разработки средств с мультитаргетной активностью для повышения эффективности терапии при острой интоксикации ингибиторами холинэстераз.

ГЛАВА 5 посвящена сравнительному изучению эффективности лекарственных средств, предназначенных для сохранения когнитивных функции у пострадавших от воздействия ингибиторами холинэстераз в отдаленной перспективе. Использование разработанной экспериментальной модели позволило продемонстрировать любопытный парадокс – средства, более эффективно сохраняющие целостность тканей мозга (Ноопепт и Мексидол) менее выражено влияют на поведенческие показатели, чем другие изученные соединения. Вкупе с тем фактом, что фенилкарбаматная модель в принципе была малопоказательна в тесте УРПИ, но при её реализации наблюдались повреждения тканей мозга у животных, а также с противоречивыми литературными данными, не подтверждающими прямой и явной взаимосвязи поведенческих нарушений с тяжестью интоксикации, полученные результаты обосновывают необходимость дальнейших исследований и разработок средств профилактики неврологических нарушений, обязательных к применению в случаях, когда у пострадавших отсутствуют выраженные отклонения в поведении после острой интоксикации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ посвящено систематизации и обобщению полученных результатов, а также их интерпретации с учетом ранее опубликованных данных научной литературы.

ВЫВОДЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ обоснованы, полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ состоит из 160 наименований, в том числе 56 отечественных и 104 иностранных, включая и современные и классические научные труды по направлению исследования.

Содержание автореферата соответствует материалам диссертации.

В качестве замечаний после прочтения работы можно назвать:

1. Использование только одного представителя группы карбаматов при разработке экспериментальной модели. 2. Отсутствие более длительных наблюдений за выжившими после воздействия фенилкарбамата животными. Интересно, было бы получить дополнительные данные о функциональном состоянии животных в отложенной перспективе при динамическом наблюдении в течение 2-3 месяцев.

3. Отсутствие экспериментов по отсроченному введению перспективных средств терапии. В рамках работы, посвященной, по сути, первичной сравнительной оценке эффективности данное замечание не существенно, однако при продолжении разработки выявленных перспективных соединений в качестве лекарственных средств подобные эксперименты представляют несомненный интерес.

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

1. Применима ли разработанная модель в доклинических исследованиях противосудорожных лекарственных средств, имеющих предполагаемые механизмы действия не связанные с ингибированием активности ацетилхолинэстераз?

2. Что, по Вашему мнению, вносит большой вклад в наблюдаемые изменения в крови и тканях после прекращения судорог у животных – специфическое воздействие карбамата, запуская ассоциированные каскады обменных процессов или неспецифические, сопутствующие генерализованному судорожному синдрому проявления гипоксии, ишемии, микротравм и воспалительных реакций?

Заключение:

Таким образом, диссертация Мелеховой Александры Сергеевны «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, направленная на поиск средств эффективной терапии острых интоксикаций карбаматами. По актуальности, новизне, объему проведенных исследований, методическому уровню, теоретической и научно-практической значимости, публикациям в научной печати, диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.4. Токсикология.

«12 сент» 2025 года

Подпись доктора медицинских наук, профессора В.В. Афанасьева заверяю

«12» сентября 2025 года

ФИО полностью
Трифимов Е.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41
Тел. +7(812) 303-50-00, e-mail:rectorat@szgmu.ru