



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
(ФГБНУ «ИЭМ»)

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук профессора П.Д. Шабанова на
диссертационную работу ПРОНИНА Артема Викторовича на тему:
«Нейропротективные эффекты органических солей лития»,
представленную к публичной защите на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология,
клиническая фармакология

Актуальность проблемы

В момента начала широкого применения солей лития в качестве психорегулирующих (антиманиакальных) средств в 1949 г. за ними прочно закрепилось мнение, что это психотропные средства достаточно узкого спектра, направленные на устранение либо уменьшение циклических колебаний настроения по типу маниакально-депрессивного психоза (бициклического расстройства). Это привело к разработке и внедрению в клиническую практику ряда солей лития, таких как лития хлорид, лития карбонат, лития оксибутират в качестве антиманиакальных средств. Иные аспекты психотропной активности почти не рассматривались, за редким исключением (см. работы из лаборатории проф. Т.А. Ворониной, НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, которую выполняли представители Белоруссии, в частности, Г.Н. Шилов, 2000-е гг.). Именно в этих работах и был сделан акцент на предполагаемые ноотропные свойства ряда литий-содержащих соединений, хотя, к сожалению, дальнейшего продолжения эта работа и не получила. С другой стороны, литий, как катион, без сомнения, всегда привлекал внимание исследователей при создании лекарственных веществ из-за его возможной роли функционального антагониста ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} . И здесь акцент был сделан именно на возможности его

потенциальных нейропротекторных свойств при стрессе, эксайтотоксичности и нейродегенеративных состояниях. Именно этой проблеме и посвящена диссертационная работа А.В. ПРОНИНА. Выбор темы исследования вполне оправдан, поскольку подобных исследований в РФ, да и в других странах, проводится крайне мало, а они весьма важны для нужд физиологии, фармакологии и профилактической медицины. Подход автора к проблеме следует оценить как классический. Он включает, по меньшей мере, два основных элемента – это изучение нейропротекторных эффектов органических солей лития на культуральной модели нейронов мозжечка и изучение биораспределения солей лития в организме крыс с помощью набора современных методов исследования. Диссертант рассматривает оба подхода, умело их комбинируя, тем самым демонстрируя глубину понимания проблемы и конкретного решения задач. Считаю, что появление работы А.В. ПРОНИНА следует признать уместным и своевременным, а работу оценить как фундаментальную по сути, на стыке двух дисциплин – фармакологии и физиологии, что ориентирует работу на практическую применимость результатов. Работа, безусловно, выполнена на актуальную и перспективную с практической точки зрения тему.

Структура и оформление работы

Диссертация построена по общепринятому плану и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, глава собственных экспериментальных исследований, разделенная на два подраздела, заключение с обсуждением полученных результатов, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 262 источника (23 отечественных и 239 иностранных авторов). Работа изложена на 169 страницах машинописного текста, содержит 17 таблиц и 68 рисунков и схем. Основные положения диссертации достаточно полно отражены в 15 публикациях автора (в том числе 6 статьях в журналах списка ВАК). Диссертационная работа хорошо

оформлена, документирована и отредактирована. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Положительным качеством представленной работы является то, что ее отдельные фрагменты, а также целостный материал диссертации был подвергнут разностороннему обсуждению на представительных форумах международного, республиканского и регионального уровней.

Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором

Целью исследования диссертанта было изучение биораспределения лития при введении внутрь органических солей лития (цитрата, аскорбата) и сравнение эффектов органических солей лития (цитрата, аскорбата) и неорганических солей лития (хлорида, карбоната) на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматной токсичности *in vitro*. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (их 6). Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных физиологических, фармакологических, цитологических и биохимических методов исследования. Среди них фармакокинетический анализ распределения и биодоступности органических солей лития, моделирование нейродегенеративного повреждения нейронов головного мозга крыс на 7–8-суточных культурах, полученных методом ферментно-механической диссоциации клеток мозжечка 7-дневных крыс, микроскопические методы оценки дегенеративных повреждений, методы физиологического, фармакологического и статистического анализа. Постановка цели и задач работы конкретны и логичны. Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам работы. Значительный объем данных, их статистическая обработка и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

В ходе исследований автор сделал ряд важных находок. В частности, доказано, что органические соли лития (цитрат лития, аскорбат лития)

способствуют поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови, в головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития. Автор демонстрирует, что при обработке цитратом лития культуры зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса повышается выживаемость нейронов, чего не наблюдалось для неорганических солей лития (карбонат, хлорид) в том же диапазоне концентраций лития (0,1...1,0 ммоль/л). Максимальный нейропротекторный эффект цитрата лития наблюдался автором в концентрации 0,2 ммоль/л: выживаемость клеток повышалась в среднем на 20% ($p < 0,003$). Далее. При обработке аскорбатом лития клеток мозжечка в условиях глутаматного стресса в том же диапазоне концентраций лития (0,1...1,0 ммоль/л) достоверно повышается их выживаемость. Результаты анализа функций распределения чисел выживших нейронов при концентрациях аскорбата лития 0,2, 0,5, 1,0 ммоль/л при этом показали достоверное отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления аскорбата лития. Автор делает вывод, что аскорбатный и цитратный анионы способствуют более эффективному транспорту ионов лития внутрь нейронов. Результаты исследований репрезентативны, корректно обработаны и не вызывают сомнений.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Представленный большой объем экспериментальных данных (исследования выполнены на крысах с применением фармакокинетического, морфологического и физиологического анализа), адекватный дизайн исследования, корректная статистическая обработка полученных результатов, четкое представление в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

Научная новизна

Автор описывает в работе оригинальные данные по особенностям биораспределения цитрата лития и аскорбата лития в организме крыс. Подчеркивается, что цитрат лития преимущественно накапливается в крови и цельном головном мозге, а аскорбат лития накапливается в крови и лобной доле головного мозга. Важным экспериментальным фактом является положение, что цитрат лития и аскорбат лития достоверно повышают выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка при глутаматном стрессе в сравнении с эффектами неорганических солей лития (хлорида лития, карбоната лития) и натрия (цитрата натрия и аскорбата натрия). Это доказывает прямые нейропротекторные свойства органических солей лития.

Рецензируемая работа может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование в области базисной фармакологии, фундаментальной физиологии и медико-биологической науки в целом.

Теоретическая и научно-практическая значимость

Теоретическое значение работы А.В. ПРОНИНА следует оценить как высокое, поскольку она изначально является фундаментальной по направленности. Полученные результаты свидетельствуют, что органические соли лития способствуют поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови и в головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития. Важно подчеркнуть, что результаты настоящего исследования подтверждают непосредственное нейропротекторное действие цитрата лития и аскорбата лития, оказываемое на зернистые нейроны мозжечка в культуре в условиях глутаматного стресса. Полученные данные автор рассматривает с позиции использования органических солей лития для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний. Это позволяет

оценивать их как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, физиологии, нервных болезней и психиатрии.

Результаты исследований А.В. ПРОНИНА могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в учреждениях Российской академии наук, Министерства здравоохранения РФ, Министерства науки и высшего образования РФ, Министерства сельского хозяйства и ветеринарной медицины.

Статистика

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Используемые статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 работ, включая 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК, и 9 работ в сборниках научных публикаций и тезисов. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в работе.

Выводы

Работа содержит 6 выводов. Все выводы обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы и некоторые спорные моменты, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. На рисунках 37 (стр.91), 39 (стр.94) и 41 (стр.97) и соответствующих рисунках в автореферате автор приводит данные по выживаемости нейронов мозжечка при добавлении в среду карбоната лития, хлорида лития и аскорбата лития соответственно. Вопрос: с чем автор связывает крайне слабые отличия в выживаемости нейронов при увеличении концентраций исследуемых соединений от 0,1 мМ до 1 мМ, то есть в 10 раз (особенно для хлорида и аскорбата лития)?

2. При глутаматном стрессе эти эффекты органических солей лития принципиально меняются: не проявляет защитного эффекта хлорид лития (рис.55, стр.114) и карбонат лития (рис.53, стр.111), а аскорбат лития (рис.57, стр.117) «работает» только в высоких концентрациях (0,5-1 мМ). Вопрос: почему именно аскорбат лития из всех солей? Эти данные вошли в вывод 5, но никак не объясняют результата. Просьба дать более развернутое пояснение этих данных.

3. Как автор видит дальнейшую перспективу внедрения полученных результатов? Это сугубо теоретическое исследование, или, как указывает автор, его можно отнести к пониманию развития и лечения нейродегенеративных заболеваний? Каких и как? Просьба дать развернутый ответ.

4. Имеются пожелания автору не столько в виде замечания, сколько именно рекомендаций. Для того чтобы обоснованно утверждать о нейропротекторных свойствах солей лития, все же требуется оценить поведенческие эффекты соединений в моделях, как правило, рассматриваемых для оценки ноотропной активности веществ. Исследований *in vitro* и на культурах явно недостаточно, потому что их нельзя полностью перенести на эффекты *in vivo*. Поэтому в дальнейшей работе это следует учесть.

5. Имеются небольшие замечания по оформлению диссертации и автореферата, однако они встречается практически у всех соискателей.

В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление, как по сути, так и по оформлению.

Все приведенные вопросы и замечания не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

Заключение

Диссертационная работа ПРОНИНА Артема Викторовича на тему: «Нейропротекторные эффекты органических солей лития», выполненная под руководством доктора медицинских наук профессора О.А. Громовой и представленная к публичной защите по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, является законченной, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области базисной и клинической фармакологии, состоящей в изучении нейропротекторных эффектов новых органических солей лития, что имеет большое значение для фармакологии и нервных болезней. Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данное исследование соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (редакция от 21.04.2016 г. №335, от 28.08.2017 г. №1024) о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, ПРОНИН Артем Викторович, по своей эрудиции, научному и практическому опыту достоин присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

Заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
доктор медицинских наук профессор

Петр Дмитриевич Шабанов,
тел. 8-921-900-1951, e-mail: pdshabanov@mail.ru,
Санкт-Петербург, 197376, ул. Акад. Павлова, 12

«02» марта 2020 года

Подпись Шабанов П.Д.
Удостоверяется
Нач. отдела УП и Д ФГБНУ «ИЭМ»

