

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Масловой Натальи Николаевны на диссертационную работу Авакяна Георгия Гагиковича на тему «Клинико-нейрофизиологическое изучение патогенетических «мишеней» воздействия современных противосудорожных препаратов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.01.11 – нервные болезни, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Эпилепсия и на сегодня остаётся одним из наиболее тяжелых заболеваний головного мозга, приводя к снижению трудоспособности, социальной дезадаптации, инвалидизации и преждевременной смерти больных. В результате, проблема из медицинской превращается в общественную и социально-экономическую.

По данным Минздрава России общая заболеваемость эпилепсией за последние годы составляет 205 на 100000 взрослого населения, при этом 17 человек из них - новые случаи регистрации. Крупномасштабные эпидемиологические исследования в репрезентативных выборках в 16 регионах нашей страны (Гусев Е.И., Гехт А.Б., 2015) показали, что стандартизованная распространенность эпилепсии в Российской Федерации составляет 2,92 на 1000 взрослого населения (0,3%). Среди больных эпилепсией инвалидность в 7 раз превышает общую инвалидность в стране (59,49/8,4%).

Вместе с тем, около 15% пациентов в популяции вовсе не получали лечения, а тем, что лечились: 51,57% монотерапией, 34,26% дуо- и политерапией, – не всегда назначались адекватные дозы и обоснованные комбинации противосудорожных препаратов (ПЭП), и очень редко (5%) – современные препараты. Т.о., низкий уровень достижения ремиссии в нашей стране (15%) и сохранение приступов у 60-80% пациентов (Гусев Е.И., Авакян Г.Н., 2014) связаны преимущественно с перечисленными факторами. Кроме того, традиционно сохраняется высокий уровень неприверженных пациентов, составляя 29-39%. С такими же трудностями сталкиваются эпилептологи в других экономически развитых странах. В США и Австралии до 43% больных не получают лечения: не назначают врачи или отказываются пациенты (Faught R.E., 2019).

Наиболее сложную проблему для общественного здравоохранения в РФ представляют фармакорезистентные эпилепсии (ФРЭ), забирая 75% из 14 млрд затрат на нозологию ежегодно.

Оптимизация и совершенствование лечения пациентов с ФРЭ требует углубленного экспериментального изучения наиболее уязвимых «патогенетических «мишеней» этого заболевания. В этой связи одним из основных путей совершенствования лечения является разработка «мишень»-направленных лекарственных средств с использованием нанотехнологий.

Всё вышеизложенное, делает абсолютно обоснованной и своевременной **цель научного исследования** автора - клиническое, нейрофизиологическое и экспериментальное изучение эффективности, спектра действия и патогенетических мишеней современных противозпилептических препаратов, их комбинаций и разработка новых технологий, направленных на оптимизацию лечения пациентов с фармакорезистентными формами фокальной эпилепсии.

Научная новизна положений, исследований и результатов

Из наиболее ярких результатов исследования стоит отметить, что автором впервые проведена сравнительная клиническая оценка эффективности различных ПЭП, назначаемых в режиме моно- и дуотерапии у первичных пациентов с фокальной эпилепсией. Определена целесообразность применения различных комбинаций ПЭП.

Авакяном Г.Г. впервые с целью оптимизации лечения параллельно исследованы электрофизиологические механизмы реализации противосудорожного действия ПЭП на патогенетические звенья эпилепсии, как «мишени» фармакотерапевтического воздействия. Проведен электрофизиологический анализ механизма действия новых противозпилептических препаратов на первичные и вторичные детерминантные очаги в различных структурах головного мозга на модели кобальтовой эпилепсии.

Впервые при использовании когерентного анализа показано, что лакосамид вызывает ослабление межцентральных корково-гиппокампальных связей и структурными мишенями действия лакосамида являются кора и гиппокамп. Установлено, что влияние карбамазепина направлено в первую очередь на доминантную структуру мозга; действие ламотриджина – на кору головного мозга, а основной мишенью действия топирамата оказались контрлатеральная кора, «зеркальный» очаг.

Впервые при использовании принципиально нового нанотехнологического подхода к созданию ПЭП с целенаправленной транспортной доставкой через ГЭБ получено и изучено новое вещество - мексидол -PLGA-лецитин, которое имеет существенные преимущества по

сравнению с мексидолом в субстанции по спектру эффектов, в том числе по влиянию на вторично-генерализованные судороги на модели эпилептического статуса.

Доказано, что электрофизиологические механизмы реализации противозепилептического действия нового соединения Бепродон зависят от стадии развития эпилептической системы и направлены на детерминатные очаги, а именно: на первой стадии развития ЭпиС мишенями действия Бепродона являются корковые, а на второй стадии – подкорковые очаги.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведен анализ результатов долгосрочного сравнительного проспективного наблюдения в условиях реальной клинической практики, что может иметь значение в интеграции полученного опыта в первичное звено здравоохранения.

Предложен алгоритм лечения фокальных эпилепсий, а также возможность персонализированной терапии фармакорезистентных фокальных симптоматических и криптогенных форм. Перечисленное позволит повысить эффективность лечения, улучшить качество жизни больных и их социальную адаптированность.

Изучение особенностей спектров фармакологической противозепилептической активности, механизмов действия и определение таргетных структурных мишеней действия базовых классических и новых ПЭП на различных стадиях формирования эпилептической системы в эксперименте позволит прогнозировать особенности клинического применения отдельных препаратов. Это будет способствовать дальнейшему совершенствованию лечения больных эпилепсией, особенно в случаях фармакорезистентности у трудно курабельных больных.

Исследованы в эксперименте нано-форма препарата Мексидол, и новое соединение Бепродон, что стает научной «платформой» для дальнейшего более углубленного исследования их в качестве противозепилептического средства в клинических условиях.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Г.Г. Авакяна построена по классической схеме, изложена на 323 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, двух глав результатов клинического и экспериментального исследований с описания материалов и методов исследования в них, глава обсуждения результатов исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, списка сокращений.

Работа иллюстрирована 58 таблицами, 42 рисунками и 3 схемами.

Указатель литературы содержит 449 библиографических источников (190 отечественных и 259 иностранных), НИР изложена хорошим литературным языком.

Во введении представлены актуальность темы, цель и задачи исследования, отражена его новизна и практическая значимость.

В обзоре литературы подробным образом представлены этиологические факторы, патогенез, диагностика и современные подходы к патогенетической терапии эпилепсии, фармакорезистентной в том числе. Обзор литературы свидетельствует о глубоком знании проблемы и содержит аргументированные обоснования цели и задач проведенной работы.

Главы 2 и 3 - «Результаты собственных исследований».

В главе 2 «Результаты клинических исследований» приведены данные по сравнительному открытому проспективному клиническому исследованию 910 пациентов с фокальной эпилепсией.

Автором подробно описаны все этапы проведенного исследования, представлены использованные методологии. Обращает внимание подробное описание критериев набора в НИР разных групп пациентов с ФРЭ: оценка анамнеза, неврологического статуса, результатов инструментальных методов обследования, отбор по критериям включения и исключения из 1815 больных.

Проведено сравнительное когортное клиничко-нейрофизиологическое и нейровизуализационное исследования 240 пациентов с фокальной фармакорезистентной эпилепсией. Наблюдение за пациентами осуществлялось в течение 4-5 лет и включало 2-4 осмотра в год с кратностью 1 раз в 3-6 месяцев.

Методы оценки (Гусев Е.И., Авакян Г.Н., Никифоров А.С., 2014):

1. Клиническая оценка эффективности лечения различными ПЭП по:
 - a. суммарному количеству эпилептических приступов до и после 12-месячной комплексной терапии (в пересчете на 28 дней)
 - b. процентному распределению больных по уровню снижения приступов
 - c. удержанию на терапии в течение 5 лет лечения
2. Рутинное ЭЭГ-исследование, запись 20мин к динамике
3. Видео-ЭЭГ-мониторинг (ВЭЭГ) в динамике
4. Магнитно-резонансная терапия в режимах T1 и T2, FLAIR
5. Лабораторные исследования: по показаниям биохимические анализы крови и мочи, определение концентрации препаратов в крови.

Статистическая обработка. Нормальность распределения определялась по критерию Колмогорова-Смирнова. Данные представлялись как $M \pm SD$, где M – средняя, SD – стандартное отклонение при нормальном распределении. Для сравнения двух групп использовался критерий Манна-Уитни, при этом различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Использовались критерий Стьюдента (Т-критерий) для нормально распределенных показателей и статистический непараметрический критерий - точный критерий Фишера, не зависящий от характера распределения показателя.

Для каждого признака (из числа включенных в анализ) проводилось попарное сравнение заданных групп пациентов (реализаций), выявлялись достоверные различия. Для попарно связанных показателей, отражающих их динамику в процессе лечения, для оценки значимости выявленных изменений использовался как парный Т-критерий, так и биномиальный критерий.

Для сравнения нескольких групп по качественному признаку и частоте их значений проводился анализ произвольных сопряженных таблиц при помощи критерия χ^2 (хи-квадрат) и/или тест Фишера (ТКФ), как непараметрический аналог дисперсионного анализа.

Для формирования графиков, а также для проверки нормальности распределения количественных признаков, получения описательной статистики и проведения сравнения сформированных групп пациентов с использованием критериев Стьюдента (Т-критерия) и Манна-Уитни использованы пакеты программ EXCEL 2010 и STATISTICA 7.0..

Глава 3 «Экспериментальное исследование»

Исследование на экспериментальных моделях эпилепсии: максимального электрошока, антагонизма с коразолом, кобальт индуцированной хронической очаговой эпилепсии, эпилептического статуса, влияния различных ПЭП на 200 белых крыс массой 220-280 г и 200 мышах массой 18-29 г.
Методы оценки (Воронина Т.А., 2012):

1. Изучение динамики изменения биоэлектрической активности мозга крыс на первой и второй стадиях формирования первичного и вторичного эпилептогенных очагов. Регистрация биопотенциалов мозга осуществлялась на 21-канальном аппаратно-программном комплексе для топографического картирования электрической активности мозга, нейрографе «Нейросенсор», работающем на базе IBM-PC 586 с установленными фильтрами на 32 Гц и постоянной времени 0,03 с записью цифровой компьютерной ЭЭГ с использованием программы BRAINSYS для анализа пароксизмальной активности.

Для каждого животного записывались и вычислялись следующие показатели биоэлектрической активности головного мозга:

- a. число пароксизмальных разрядов за 1 минуту, длительность пароксизмальных разрядов за 1 минуту по сумме этих показателей
 - b. определялась детерминантная структура ЭпиА
 - c. структура мозга – «мишень», на которую оказывает влияние исследуемое вещество. Параметры регистрировались в следующих структурах: ипсилатеральной левой коре, контралатеральной правой сенсомоторной коре, латеральном гипоталамусе, дорзальном гиппокампе (слева).
2. Анализ спектральной мощности. Спектры мощности синхронной и десинхронной составляющих записи ЭЭГ вычисляли на основе быстрого преобразование Фурье, основанном на представлении исходного сигнала в виде

суммы синусоидальных сигналов различных частот и амплитуд. При спектральном анализе определялась энергия каждой частотной составляющей с распределением их по диапазонам физиологических ритмов в дельта- (0,5–4 Гц), тета- (4–8 Гц), альфа- (8–13 Гц), бета- (13–30 Гц).

3. Анализ когерентности. Определяли уровень согласованности и взаимосвязанности определенных зон мозга, а именно показатель когерентности, значение которой принимали от 0 до 1. Когерентность была вычислена из значений мощности и взаимной спектральной мощности, усредненным по эпохам длительностью 4 сек по участкам ЭЭГ не менее 40 секунд. Для нормализации (приведения к распределению Гаусса) была использована формула: $КОГ = \frac{1}{2} \ln(1+J/1-J)$, где КОГ – нормализованный коэффициент когерентности; $J = \sqrt{\text{когерентность}}$.

4. Морфологический контроль.

В главе 4 «Обсуждение результатов клинических и экспериментальных исследований» проведено обсуждение полученных результатов исследования в сравнении с данными мировой литературы. Показано, что клинико-видео-ЭЭГ компьютеризированное исследование с оценкой неврологического статуса пациентов, а также нейровизуализационное исследование (МРТ) способствуют топической диагностике и дают возможность обосновать персонифицированную и патогенетическую терапию пациентов с фармакорезистентными фокальными симптоматическими и криптогенными формами эпилепсии.

По данным автора, изучение в эксперименте нейрофизиологических механизмов формирования эпилептической системы и эффектов ПЭП выявляет особенности спектров их противозипилептической активности, расширяет представления о механизмах действия и определяет таргетные структурные «мишени» терапевтического воздействия, что прогнозирует особенности клинического применения препаратов, составляет основу для поиска новых комбинаций ПЭП, способствует совершенствованию лечения больных эпилепсией, особенно в случаях фармакорезистентности у трудно курабельных больных.

Особый интерес представляет разработанное автором инновационное направление в экспериментальных исследованиях, создавшее научную «платформу» для разработки дальнейших более совершенных методов противозипилептической терапии.

Выводы и практические рекомендации конкретны и убедительны, логически следуют из полученных в ходе работы результатов, полностью соответствуют поставленным задачам. Список литературы включает 449 библиографических источника, из которых 190 отечественных и 259 зарубежных, подавляющее большинство которых опубликовано за последние годы. Оформление диссертационной работы соответствует требованиям, установленным Министерством образования и науки Российской Федерации.

Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов

Достоверность полученных в ходе работы результатов не вызывает сомнения. Работа выполнена на высоком научном и глубоком методическом уровне, что обосновано репрезентативной группой клинического исследования – 910 пациентов с фокальной эпилепсией; сопоставимостью групп исследования лиц с фармакорезистентной эпилепсией, а также достаточным количеством экспериментальных животных (400 мышей и крыс). Обработка материала проведена адекватными задачам современными статистическими методами исследования с помощью программы «Statistica V. 6.0.», с использованием однофакторного дисперсионного анализа и непараметрического анализа для независимых переменных (U-тест Манна-Уитни).

Участие в статистическом анализе принимали специалисты кафедры медицинской кибернетики и информатики МБН ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ.

Основные материалы диссертации активно обсуждались на 15 крупнейших межрегиональных и международных неврологических конференциях и конгрессах последних лет.

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, протокол заседания № 86 от 08.02.21 г.

Внедрение. Разработанные методики и полученные в ходе исследования данные используются в практической работе в ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, в ГБУЗ «Научно-практический центр детской психоневрологии Департамента здравоохранения г. Москвы», а также в процессе лекционного и практического обучения ординаторов, аспирантов и слушателей кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ.

Всего **опубликовано** по теме диссертации 54 печатных работ, из них 48 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 – в иностранном журнале, 1 – монография, оформлен 1 Патент на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Проведен анализ результатов долгосрочного сравнительного проспективного наблюдения в условиях реальной клинической практики, что может иметь значение в интеграции полученного опыта в первичное звено здравоохранения.

Сопоставление показателей клинического нейрофизиологического и нейровизуализационного исследования пациентов с ФРЭ позволят обосновать индивидуальную топическую диагностику и патогенетическую терапию больных. Определена целесообразность применения различных комбинаций базисных и ПЭП нового поколения, доказана их эффективность при фармакорезистентных эпилепсиях.

Предложен алгоритм лечения фокальных эпилепсий, а также возможность персонифицированной терапии фармакорезистентных фокальных симптоматических и криптогенных форм, что позволит повысить эффективность лечения, улучшить качество жизни больных и их социальную адаптированность.

Изучение особенностей спектров фармакологической противозепилептической активности, механизмов действия и определение таргетных структурных мишеней действия базовых классических и новых противозепилептических препаратов на различных стадиях формирования эпилептической системы в эксперименте позволят эпилептологам прогнозировать особенности клинического применения отдельных препаратов.

Исследованы в эксперименте нано-форма препарата Мексидол, и новое соединение Бепродон, что послужит научной «платформой» для дальнейшего более углубленного исследования их в качестве противозепилептических средств в клинических условиях.

Оценка автореферата

В автореферате представлены основные этапы работы, результаты и выводы, содержится достаточное количество исходных данных и иллюстрационных материалов. Замечаний по написанию автореферата нет.

Замечания

Принципиальных замечаний к работе нет. Имеются отдельные стилистические погрешности и опечатки, на которые указано автору. Данные замечания и уточнения не снижают ценности работы.

Заключение

Диссертационная работа Георгия Гагиковича Авакяна **«Клинико-нейрофизиологическое изучение патогенетических «мишеней» воздействия современных противозепилептических препаратов»** на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям «14.01.11 – нервные болезни» и «14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология», является научно-квалифицированной работой, выполненной при научном

консультировании академика РАН, профессора Е.И. Гусева и профессора Т.А. Ворониной, содержит решение актуальной научно-практической проблемы клинического и экспериментального изучения эффективности современных противосудорожных препаратов и их комбинаций, внедрению новых технологий, направленных на оптимизацию лечения пациентов с фармакорезистентными формами фокальной эпилепсии; работа имеет существенное научно-практическое значение для неврологии и клинической фармакологии.

Диссертация Георгия Гагиковича Авакяна полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842 (редакция от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает искомой степени доктора медицинских наук по специальностям: «14.01.11 – нервные болезни» и «14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология».

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии
ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет»
Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Специальность: 14.01.11. – нервные болезни
Маслова Наталья Николаевна

Адрес: 214019 Смоленск, ул. Крупской, 28
+7 4812 552426
neuro_smolensk@mail.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора
Масловой Натальи Николаевны
ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, к.м.н., доцент Владимир Сергеевич Петров

«30» _____ 2021

08

