

ОТЗЫВ ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова Калениковой Елены Игоревны на диссертационную работу Даниелян Сирануш Артуровны на тему «Коррекция митохондриальной дисфункции производными коричной кислоты и флавоноидами в условиях экспериментальной ишемии головного мозга», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)

Актуальность проблемы

Работа Даниелян С.А. посвящена решению актуальной научной задачи – коррекции митохондриальной дисфункции производными коричной кислоты и флавоноидами в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. Клинико-эпидемиологические исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют о высокой распространенности и устойчивой тенденции к росту цереброваскулярных заболеваний, а именно ишемического инсульта. Это обусловлено влиянием различных факторов, определяющих характер современной жизни, и приводит к значимым экономическим потерям. Используемые в клинической практике церебропротекторные препараты не всегда демонстрируют достаточную эффективность, что указывает на актуальность поиска новых церебропротекторных средств. В настоящее время возрастает интерес к средствам растительного происхождения, что объясняется рядом их преимуществ перед синтетическими. Судя по современным литературным данным, на роль подобных соединений вполне могут претендовать флавоноиды и производные коричной кислоты. Обладая широким спектром фармакологической активности (антиоксидантная, нейропротекторная, метаболическая, эндотелиопротекторная), вышеуказанные соединения можно рассматривать как перспективные для изучения в качестве

церебропротекторных средств, способных оказывать положительное действие на митохондриальную дисфункцию в условиях ишемического повреждения головного мозга.

Теоретическая и научно-практическая значимость

Полученные Даниелян С.А. сведения значительно расширяют представления о терапевтических возможностях мальвидина при лечении ишемического инсульта. С использованием традиционных и оригинальных методических подходов автор показала, что среди различных соединений – производных коричной кислоты и флавоноидов, наиболее выраженным церебропротекторным свойством обладает соединение мальвидин, относящееся к антоцианам. В рамках углубленного изучения соединения-лидера было показано, что мальвидин обладает эндотелиопротекторной активностью, повышает активность эндогенных антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза), снижает концентрацию провоспалительных цитокинов. Автор рассматривает митохондриальную дисфункцию как перспективную мишень для действия церебропротекторных средств, что согласуется с современными литературными данными. В рамках данной концепции было показано, что мальвидин оказывает положительное влияние на митохондриальную дисфункцию на фоне ишемического инсульта. Полученные данные позволяют автору рекомендовать продолжать исследование фармакологических свойств мальвидина с целью создания на его основе церебропротекторного средства для терапии и/или профилактики ишемических поражений головного мозга.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Представленные в диссертационной работе результаты получены в результате экспериментальных исследований на достаточном количестве животных. Проведена корректная статистическая обработка данных с использованием современных методов. Факты подробно описаны и проанализированы, что позволяет оценить результаты диссертационной

работы как достоверные, а положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации считать обоснованными.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе 7 в журналах из перечня ведущих рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ. Публикации отражают все основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Структура и оформление работы

Диссертационная работа изложена на 168 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав собственных результатов, их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 253 источника: от классических трудов прошлых лет до исследований 2024 года. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 22 рисунками. Построение диссертации классическое в соответствии с существующими требованиями.

Первая глава посвящена описанию современного состояния исследований ишемического инсульта, включая эпидемиологию, социально-экономические аспекты, осложнения ишемического инсульта. Подробно описаны основные звенья патогенеза ишемического инсульта, а также представлены современные данные о митохондриальной дисфункции, как об одном из начальных патогенетических звеньев ишемического инсульта. В обзоре литературы также отражены современные подходы к фармакологической коррекции ишемического инсульта, в частности описаны перспективы более широкого применения церебропротекторов. Представлены литературные данные о современных исследованиях флавоноидов и производных коричной кислоты, описаны различные свойства соединения-лидера.

Вторая глава содержит информацию о методологии выполненного исследования; в ней представлены материалы и методы исследования. Автором использован комплексный подход к изучению с использованием

современных методов анализа. Применен широкий спектр биохимических и иммуноферментных методик. При воспроизведении ишемического повреждения головного мозга использовали метод необратимой термокоагуляции правой средней мозговой артерии. Примененные методы адекватны поставленным задачам диссертации. Количество животных, использованных в экспериментах, позволяет получить достоверные результаты. Проведена статистическая обработка результатов.

Материалы собственных исследований представлены в главах 3, 4, 5.

В третьей главе описаны результаты фармакологического скрининга 13-ти производных коричной кислоты и флавоноидов в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. Скрининг проводили посредством оценки степени влияния на когнитивные, психоэмоциональные, метаболические нарушения, а также степень некроза и отека головного мозга. В ходе последнего выявлено соединение-лидер из группы антоцианов - мальвидин, которое, исходя из совокупности полученных результатов, обладает наиболее выраженным церебропротекторным действием, проявившемся в виде сохранения когнитивных, сенсомоторных, двигательных функции у крыс, поддержании метаболизма на физиологическом уровне и уменьшении степени некроза и отека головного мозга.

Четвертая глава содержит данные об определении эффективности вещества – лидера в интервале доз от 25 мг/кг до 200 мг/кг. Выявлено, что наиболее выраженный эффект наблюдался при применении дозы 100 мг/кг, что выражалось в большем снижении концентрации лактата, пирувата, а также уменьшении зоны некроза головного мозга.

В пятой главе описаны потенциальные механизмы церебропротекторного действия соединения - лидера. Мальвидин способствовал сохранению активности функций эндотелия сосудов головного мозга, что наблюдалось в виде повышения скорости

церебрального кровотока, адекватной сосудистой реакции при инстилляции эндотелий-специфических анализаторов. Вместе с тем установлено сохранение антитромботической функции эндотелия. Изучалось также влияние мальвидина на активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза). При введении мальвидина экспериментально доказана нормализация работы митохондрий в условиях патологии, выражающаяся в повышении их АТФ-генерирующей активности, респираторной емкости, максимального уровня дыхания и снижении интенсивности гликолиза. Кроме того, показано повышение активности комплексов дыхательной цепи митохондрий, повышение митохондриального мембранного потенциала, увеличение латентного времени открытия митохондриальной поры, а также снижение концентрации кальция в гомогенате головного мозга.

Шестая глава посвящена обсуждению результатов проведенного исследования. Исходя из общего числа показателей автор делает обоснованный вывод, что соединение-лидер мальвидин обладает выраженным церебропротекторным действием, которое по активности находится на уровне препаратов сравнения или превосходит таковое.

Диссертация завершается 8-ью выводами и практическими рекомендациями. Все выводы и практические рекомендации логично вытекают из основного содержания работы. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключения диссертанта следует признать высокой, что обеспечивается как количеством проведенных экспериментов и повторов, так и глубиной их анализа.

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Использованные статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты: данные исследованы на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка; при подчинении данных закону нормального распределения для сравнения групп средних применены параметрические методы - ANOVA с пост-

обработкой по критерию Ньюмена-Кейсла; в случае неподчинения были использованы методы непараметрической статистики (критерий Краскелла-Уоллиса).

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационного исследования, соответствует его разделам, положениям и выводам.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертации возникли следующие замечания и вопросы, требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

Замечания

В тексте диссертации встречаются неудачные выражения.

Так, на стр. 18 фраза «после инсульта в результате реакции присоединения свободного электрона к кислороду в них (митохондриях) образуется супероксид» не точна, т.к. супероксид образуется в митохондриях постоянно и в норме нейтрализуется митохондриальной супероксиддисмутазой, присутствующей в очень большом количестве в межмембранном пространстве митохондрий. При инсульте речь идет об избыточной генерации супероксида.

На стр. 25 на рис. 3 представлена, согласно подрисуночной подписи, «работа дыхательной цепи митохондрий или электронтранспортной цепи». Между тем, на рисунке нет ни одного электрона, только протоны.

Везде по тексту неудачно используется словосочетание «респирометрическая функция» применительно к митохондриям. Респирометрия – метод оценки респираторной функции, и это респирометрическая функция прибора – лабораторного респирометра.

У митохондрий – дыхательная, респираторная функция, измеряемая, например, респираторной емкостью.

Вопросы

1. Почему для оценки нейропротекторного эффекта выбрана модель необратимой ишемии, в то время как в клинике чаще случается обратимая ишемия?
2. Как Вы объясняете преимущественное влияние мальвидина на I и IV комплексы митохондриальной дыхательной цепи: на первом комплексе наблюдается нормализация активности, а на IV – достоверное повышение выше нормы? (стр.116) Здесь же имеется неполное соответствие подписи рис. 17 самому рисунку (в подписи не объясняется символ #) и пояснению в тексте: в тексте «влияние на комплексы I, II, III, IV, V», на рисунке – комплексы I-IV.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Даниелян Сирануш Артуровны «Коррекция митохондриальной дисфункции производными коричной кислоты и флавоноидами в условиях экспериментальной ишемии головного мозга», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Позднякова Д.И., содержащей новое решение актуальной научной задачи в области экспериментальной фармакологии, состоящей в поиске средств с церебропротекторной активности для терапии и/или профилактики ишемического инсульта, имеющей существенное значение для специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология.

Диссертационная работа Даниелян Сирануш Артуровны полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской

Федерации №842 от 24.09.2013 г (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Даниелян Сирануш Артуровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки).

Официальный оппонент

доктор фармацевтических наук
(14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология)
заведующий кафедрой
фармацевтической химии
и организации фармацевтического дела
Факультета фундаментальной медицины
Медицинского научно-образовательного института
Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова,
профессор



Е.И. Каленикова

«14» апреля 2025 года

Подпись Е.И. Калениковой подтверждаю
Декан Факультета фундаментальной медицины
МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова,
академик РАН



В.А.Ткаченко



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес организации: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1

E-mail: eikaleni@yandex.ru

Тел. +7 (495) 939-10-00;

Официальный сайт: <https://msu.ru/address/>

В Диссертационный Совет 21.2.005.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук, созданного при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Калениковой Елене Игоревне по диссертации Даниелян Сирануш Артуровны на тему: «Коррекция митохондриальной дисфункции производными коричной кислоты и флавоноидами в условиях экспериментальной ишемии головного мозга» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность)	Ученая степень, ученое звание, специальность, по которой защищена диссертация	Основные научные работы
Каленикова Елена Игоревна	1957 г., гражданство Российской Федерации	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела	д.ф.н., профессор, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология	1. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Медведев О.С. Роль и возможности антиоксидантной терапии ишемического инсульта // Экспериментальная и клиническая фармакология, издательство Фолиум (М.). 2022. Т.85. №8. С.34-39. 2. Kalenikova E.I., Gorodetskaya E.A., Povarova O.V., Medvedev O.S. Prospects of Intravenous Coenzyme Q10 Administration in Emergency Ischemic Conditions // Life. 2024. Vol.14. No.1. P.134. 3. Obolenskaia O.N, Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Belousova M.A., Gulyaev M.V., Makarov V.G., Pirogov Yu. A., Medvedev O.S. Intravenous Administration of Coenzyme Q10 in Acute Period of Cerebral Ischemia Decreases Mortality by Reducing Brain Necrosis and Limiting Its Increase within 4 Days in Rat Stroke Model // Antioxidants (Basel, Switzerland). 2020. Vol. 9. No.12. P.1240.

				4. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Шаповал Н.С., Макаров В.Г., Медведев О.С. Фармакокинетика и тканевое распределение коэнзима Q10 при внутривенном введении в окисленной и восстановленной формах // Химико-фармацевтический журнал, издательство Фолиум (М.). 2021. Т.55. №7. С.3-7.
--	--	--	--	--

Согласна на оппонирование, не имею научных работ в соавторстве с соискателем, не являюсь членом Экспертного совета Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации.

Оппонент

д.ф.н., профессор (14.04.02 фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.00.25 фармацевтическая фармакология)

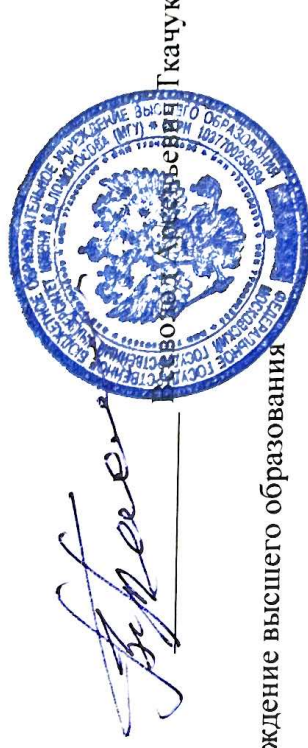
Заведующая кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины МНОИ Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

 — Каленикова Елена Игоревна

Подпись доктора фармацевтических наук Калениковой Елены Игоревны подтверждаю:

Декан ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова,
Доктор биологических наук, академик РАН
Всеволод Арсеньевич Ткачук

« 10 » 03 2025 года



Организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес организации: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1

Тел. +7 (495) 939-10-00

E-mail: eikalenii@yandex.ru

Официальный сайт: <https://msu.ru/address/>