

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Беленічева Ігоря Федоровича на дисертаційну роботу КАБАЧНОЇ Ірини Володимирівни «Нейропротекція наркоз-індукованих порушень головного мозку похідними сірко- та азотумісних гетероциклів», поданої до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 26.550.01 Державної установи «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Актуальність теми. Мільйони пацієнтів щорічно звертаються до хірургів та піддаються впливу загальних анестетиків (ЗА) під час проведення діагностичних процедур і хірургічних втручань, при цьому ЗА може бути причиною різних пошкоджень нервової системи в післяопераційному періоді. Доведено, що такі порушення функції ЦНС варіюють в залежності від типу анестезії, стану соматичного і неврологічного статусу пацієнта в передопераційному періоді, віку пацієнта і безлічі інших чинників. Більшість неврологічних ускладнень ЗА в післяопераційному періоді (виключаючи нейрохірургічні і кардіохірургічні операції) вважаються нормою при частоті до 0,04%. У літніх людей і пацієнтів, які страждають периферичної судинної недостатністю або мають в анамнезі цереброваскулярні захворювання, ризик розвитку неврологічних ускладнень набагато вище. У осіб молодого віку, а також у пацієнтів з необтяженим психоневрологічним і соматичним анамнезом, розвиток постнаркозної мозкової дисфункції, в переважній більшості випадків, пояснюється порушенням вентиляції легенів і розвитком гіпоксичних станів. Однак в будь-якому випадку клініцисту важливо вжити заходів щодо запобігання (попередження) і своєчасної корекції дисфункції центральної нервової діяльності в післяопераційному періоді.

Ступінь захисту організму від операційної травми за допомогою різних методів анестезії, так само як і критерії її адекватності, в даний час продовжують залишатися предметом дискусій. Відомо, що периопераційне тканинне пошкодження індукує цілий каскад патофізіологічних процесів, які впливають на всю ноцицептивну систему – від периферичних рецепторів до кіркових нейронів. Розвиток неврологічних ускладнень і тяжкість стану пацієнтів під час впливу загальних анестетиків залежить від шкідливої дії ішемії, яке визначається глибиною і тривалістю зниження мозкового кровотоку. Тканинна гіпоксія зі зниженням дифузії кисню через порушення мікроциркуляції, зміни реології крові та судинної стінки призводить до порушення функції клітинних структур, у тому числі нейронів.

Постанестезіологічні нейро-когнітивні порушення в цілому та зокрема післяопераційна когнітивна дисфункція (ПОКД) як прояв наркоз-індукованих нейродегенеративних ускладнень є потенційно небезпечними станами з досить тяжким клінічним перебігом, високим ризиком виникнення ускладнень та супутніх патологій. Дослідники сходяться на думці, що патогенетичні механізми негативної дії наркозу, що лежать в основі

формування ПОКД, являють собою сукупність різних процесів, серед яких не можна виділити якийсь один ведучий. Наркоз викликає підвищення проникності мембран мітохондрій і їх дисфункцію, порушує кальцієвий гомеостаз в нейронах, пригнічує енергетичні процеси, що в підсумку запускає процеси апоптотической загибелі нейрона через активацію каспаз. Загальні анестетики впливають на центральну холинергическую передачу, пригнічуючи роботу останньої за допомогою зниження вивільнення ацетилхоліну і граючи тим самим важливу роль у формуванні когнітивного дефіциту. Вплив загальних анестетиків не обмежується тільки прямими нейротоксичними ефектами. У ряді робіт показано, що наркоз викликає апоптоз в Т-лімфоцитах людини, вносячи, ймовірно, негативний внесок в розвиток ПОКД через порушення роботи імунної системи.

Отже, для отримання максимального протективного ефекту для профілактики та лікування нейротоксичних ушкоджень тканин головного мозку, в тому числі під час ЗА, необхідно домогтися переривання патогенетичного постгіпоксичного каскаду на більш ранніх етапах, в тому числі на етапі активації некрозо/апоптотичних процесів тканинах головного мозку. З метою поліпшення анестезіологічної безпеки під час оперативних втручань перспективним напрямком може бути розширення асортименту засобів первинної та вторинної нейропротекції шляхом цілеспрямованого синтезу потенційних нейропротекторів з аналептичною дією, що діють як аналептики на ті ж структури, які остаточно пригнічені самим центральним анестетиком або його активними метаболітами. У зв'язку з цим обґрунтованим і перспективним є пошук серед похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозидів) універсальних, нешкідливих нейропротекторів з аналептичною дією. Однак у доступній літературі немає загального дослідницького стандарту алгоритму скринінгу ефективних нейропротекторів-аналептиків, відсутні дані про роль похідних сірко- та нітрогеномісних гетероциклів (гетерозидів) в комплексі патогенетичного ланцюга порушень функціонування мозку в період ЗА. Дані літератури про характер ефектів загальних анестетиків при ішемічно/гіпоксичних ушкодженнях тканин головного мозку дуже суперечливі.

Тому актуальним представляється розробка стандартизованих моделей та алгоритму фармакологічного скринінгу нейропротекторів-аналептиків, а також пошук, розробка та створення оригінальних безпечних, універсальних, нешкідливих нейропротекторів з аналептичною дією серед похідних сірко- та нітрогеномісних гетероциклів, які здатні швидко і ефективно прискорювати реанімацію життєвоважливих функцій організму, загальну детоксикацію, переривати наркоз, вирішувати одразу широкий спектр медико-соціальних проблем невідкладних станів.

Все це свідчить про актуальність пошуку та необхідність вивчення нових ефективних сполук, що можуть рекомендуватися у якості нейропротекторів з аналептичною дією. Можна стверджувати, що обрана тема ґрунтується на сучасних досягненнях біологічної та медичної науки і створює передумову для кращого розуміння біохімічних та фізіологічних

механізмів фармакологічної церебропротекції з аналептичним ефектом для профілактики та лікування нейротоксичних ушкоджень тканин головного мозку, в тому числі під час ЗА. Отже, вибрана Кабачною Іриною Володимирівною тема конкретного дисертаційного дослідження без усяких сумнівів є високоактуальною і важливою.

Ступінь обґрунтованості наукових питань, висновків, рекомендацій, сформованих в дисертації, достовірність. Дисертаційна робота виконана за планом затвердженої МОЗ України науково-дослідної роботи Національного Фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем даної теми.

Результати досліджень, представлених в дисертації, обґрунтовані об'ємним і достовірним матеріалом. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи наводяться на підставі вичерпного аналізу результатів фармакологічних, біохімічних, морфометричних, імуноферментних, гістоімунохімічних досліджень, що базуються на адекватних методах та достатній статистичній і математичній обробці отриманого цифрового матеріалу, що відповідає міжнародним стандартам. Весь комплекс застосованих методичних прийомів повністю відповідає сформульованим цілі та задачам дослідження, кількість яких достатня для отримання достовірних результатів.

Загальні відомості про роботу. Логіка самого дослідження і рукопис дисертації побудовані за класичною схемою і складаються з розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Результати власних досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаної літератури».

Повний обсяг дисертації складає 201 сторінку, ілюстрована 13 рисунками, 20 таблицями, 239 посилання, з них 173 – іноземні. За темою дисертації опубліковано 25 друкованих робіт, із них 6 статей у фахових виданнях в галузі медицини, рекомендованих МОН України, 3 статті в іноземних журналах з напрямку дисертації, 4 патенти, 4 інформаційні листи при нововведення в системі охорони здоров'я, 8 тез доповідей на наукових конференціях та з'їздах.

Характеристика змісту роботи. Вступ до роботи написано лаконічно із залученням основних посилань на узагальнюючі літературні джерела. Він є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та завдань досліджень. У вступі охарактеризовано наукову новизну дослідження та її науково-практичну цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних, базових результатів досліджень.

Огляд літератури висвітлює молекулярно-біохімічні механізми постнаркозних молекулярних механізмів ушкодження нейронів та фармакологічну корекцію цитотоксичної дії анестетиків і складається з п'яти підрозділів: «Сучасний стан проблеми неврологічних ускладнень загальної анестезії», «Нейрофізіологічні механізми наркозної дії загальних анестетиків, їх вплив на ЦНС», «Види неврологічних ускладнень загальної анестезії»

«Лікування неврологічних ускладнень загальної анестезії» та «Характеристика сучасних АП та перспективи пошуку нових нейропротекторів з аналептичною дією». Проаналізовано частоту і тяжкість побічного впливу наркозу на ЦНС впливає доза анестетиків і тривалість ЗА. Відзначено, що клінічні прояви церебральної дисфункції після дії загальних анестетиків зберігаються протягом деякого періоду часу (від декількох годин до декількох днів післяопераційного періоду), при цьому збільшення тривалості ЗА призводить до збільшення тривалості і вираженості церебральної дисфункції в постнаркозному періоді. Детально проаналізовано, що дисфункція вищої нервової діяльності, яка клінічно проявляється в постнаркозному періоді, розглядається неврологами і анестезіологами швидше як «невідворотний наслідок анестезії», а не як її ускладнення, тому що на думку багатьох клініцистів «звичайні» побічні ефекти ЗА «не можуть бути попереджені» на сучасному рівні розвитку анестезіологічної практики.

Наведені результати досліджень, які доводять, що пошкодження нейронів, що виникає при дії наркозних засобів, реалізується за рахунок ряду механізмів, що включають в себе порушення іонного гомеостазу клітин, зміну активності клітинних сигнальних рецептор-активуючих систем, зміну експресії генів, ініціацію і прогресію запрограмованої (апоптоз) і патологічної (некроз) клітинної загибелі. Розуміння молекулярних механізмів пошкодження нейронів, в тому числі процесів апоптозу і некрозу, дозволяє розширити існуючі методи фармакологічної протекції клітин нервової системи.

Проведений аналіз медичної літератури останніх років дозволяє говорити про несприятливий вплив ЗА на функціональний стан ЦНС, в тому числі про розвиток метаболічних і функціональних змін на нейрональному рівні за рахунок порушень мікроциркуляції і тканинної гіпоксії, а також безпосереднього нейротоксичного впливу препаратів для ЗА, що зберігаються в постопераційному періоді. Характер цих змін залежить від тривалості ЗА, вираженості і тривалості викликаних нею функціональних, метаболічних, нейрональних змін, гіпоксії, а також від індивідуальної гіпоксичної стійкості організму і пластичності ЦНС. Тому дисертантом розглянуто фізіологічні аспекти впливу окремих компонентів ЗА на церебральну гемодинаміку та біоелектричну активність головного мозку, проведено порівняння їх фармакологічних характеристик та зроблено акцент на тому, що найбільш часто використовуваними внутрішньовенними анестетиками з різними механізмами дії є пропофол (алкілфенол), представлений у вигляді ліпідної емульсії, тіопентал натрію (барбітурат) та кетамін (похідне фенциклідину).

Наведено дані щодо можливої фармакологічної корекції гіпоксемії та інших ургентних станів аналептиками, які є частиною простих, зручних схем невідкладної терапії, а також економічно доступними. Доведено, що глибокий аналіз патогенетичних механізмів розвитку невідкладних станів (передозування наркозу, асфіксія, гіпоксія, шок, колапс, отруєння хімічними

сполуками або ліками, що пригнічують функції ЦНС) свідчить, що серед препаратів ургентної терапії нейропротектори з аналептичною дією мають першорядну важливість, але розробку цих препаратів гальмує певна відсутність теоретичної бази та методичних рекомендацій для їх доклінічного вивчення, відсутність стандартизованих методик оцінки їх ефективності та матеріалів щодо теоретичних основ їх створення. Тому дисертант завершує огляд літератури висновком про актуальність розробки стандартизованих моделей та алгоритму фармакологічного скринінгу нейропротекторів-аналептиків, а також пошук, розробка та створення оригінальних безпечних, універсальних, нешкідливих нейропротекторів з аналептичною дією серед похідних сірко- та нітрогенвмісних гетероциклів.

Результати власних досліджень і усі розділи цієї частини рукопису викладено логічно, конкретно, кожна частина дисертації повністю відповідає поставленій меті і заявленим задачам та супроводжуються аналізом і підсумовуючими висновками.

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень» представлений характеристиками матеріалів дослідження, якими оригінальні похідні сірко- та нітрогенвмісних гетероциклів гетерозиди (2 R, 5-(1,3-тіазоліл) амід етилендикарбонової кислоти натрієва сіль), традиційні аналептики комбінованої дії сульфокамфокаїн (СКК) та нікетамід, антигіпоксанти пірацетам, нейропротектори цереброкурин та ноопепт.

Ефективність обраних препаратів та механізми їх дії вивчалися в експериментах на статтєвозрілих білих безпородних щурах обох статей в центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ та ЦНДЛ Запорізького державного медичного університету, сертифікованих Державним експертним центром МОЗ України.

Дисертант в своїх експериментах використав дуже широкий набір експериментальних підходів для вирішення поставленої мети, яку він сформулював наступним чином: «обґрунтувати доцільність застосування оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозидів) в якості ефективних нейропротективних засобів з аналептичною дією для фармакокорекції структурно-функціональних порушень головного мозку в умовах експериментальних наркозів та алкогольної інтоксикації». Для її виконання були поставлені та вирішені 5 основних завдань.

Основними в роботі вибрані методи дослідження аналептичної дії речовин, яка була вивчена на самцях білих нелінійних мишей на моделях кетамінового, тіопенталового та пропофолового наркозу по таким показникам як: час прийняття бокового положення, тривалість наркозу (різниця між часом пробудження та часом прийняття бокового положення) та частота дихання, що вимірювалася багато разів (з моменту прийняття бокового положення до моменту повного пробудження тварини) під час кожного з видів наркозу. Детоксикуюча дія гетерозидів вивчена на моделі гострої алкогольної інтоксикації на білих нелінійних мишах.

Дослідження впливу на активність процесів апоптозу гетерозидів та референс-препаратів цереброкурину та ноопепту в умовах експериментальних

наркозів кетаміном та пропофолом за впливом на вміст в тканинах головного мозку щурів проапоптотичного білку c-Fos та антиапоптотичного bcl-2-білку проведено на білих безпородних щурах. Нейропротективну активність (за мнестично-поведінковими змінами) гетерозидів та референс-препаратів цереброкуріну та ноопепту оцінювали на щурах лінії Wistar. Визначення рухової і пошукової активності проводилося за допомогою методики «Відкрите поле». Оцінка референтної і робочої пам'яті проведена за допомогою радіального лабіринту LE760 (AgnTho's, Sweden) – оцінювали загальне довгострокове уявлення про структуру лабіринту і розташуванні їжі, яке сформувалося у тварини в процесі навчання, кількість помилок референтної пам'яті (перші відвідини раніше закритого променя, в якому тварина ніколи не знаходила їжу), а також робочу пам'ять (короткострокове уявлення твариною про розташування їжі в конкретному досвіді) і кількість помилок робочої пам'яті.

Кетамінову, тіопенталову та пропофолову анестезії проводили шляхом введення відповідно кетаміну/тіопенталу натрію/пропофолу внутрішньочеревинно. Продукцію та стан метаболізму оксиду азоту вивчали за активністю ендотеліальної, нейрональної та індицибельної ізоформ NO-синтази (eNOS, nNOS та iNOS). Для виявлення експресії c-fos в CA1 зоні гіпокампу використовували імуногістохімічний метод непрямої імунофлюоресценції. Концентрацію bcl-2 в цитоплазматичній фракції головного мозку визначали методом Вестерн-блот аналізу. Вивчалися також морфометричні показники (щільність та площу нейронів; концентрацію в них РНК; індекс відношення кількості нейронів, що вижили, до кількості апоптичних та деструктивно-змінених нейронів). Системний аналіз нейротропної ефективності гетерозидів проведений за допомогою методу кореляційних структур та кластерного методу.

Основний матеріал дисертації викладений в розділі «Результати власних досліджень», де автор послідовно представляє результати власних досліджень, їх оцінку, обговорення та проміжні висновки.

Розділ 3 присвячений результатам власних досліджень, а саме теоретично-експериментальній розробці основ цілеспрямованого пошуку та стандартизованих методик відбору нейропротекторів з аналептичною дією, яка проведена шляхом теоретичного прогнозування аналептичних ефектів, розробки алгоритму стандартизованих моделей фармакологічного скринінгу та визначення аналептичної дії гетерозидів на розроблених стандартизованих моделях наркозу.

На підставі дескрипторно-фармакологічного аналізу та PASS-прогнозування структур класичних аналептиків, а саме: визначено дескриптори-носії АЕ, підтверджена їх ефективність проведено PASS-аналіз 68 віртуальних структур, що містять класичні дескриптори АЕ; дана оцінка можливостей і недоліків програми PASS, а також перспективи її застосування для прогнозування АЕ; відібрано 3 найбільш перспективні структури для цілеспрямованого синтезу оригінальних нейропротекторів-аналептиків. Розроблено алгоритм проведення експериментів і

сформульовані основні вимоги та критерії оптимальності до методик відбору препаратів з аналептичною активністю. У процесі експериментальних досліджень по створенню алгоритму цілеспрямованого скринінгу аналептиків теоретично обґрунтовані, експериментально підтверджені і запропоновані в практику такі параметри як оптимальні дози наркозних препаратів.

Розроблено, апробовано та запропоновано до застосування в доклінічних дослідженнях 4 стандартизовані, відтворювані моделі оцінки рівня АЕ класичних і оригінальних аналептиків. Перевірку адекватності запропонованих стандартизованих моделей наркозу з використанням різних за механізмом дії загальних анестетиків та вивчення аналептичної дії гетерозидів в порівнянні з класичними аналептиками – кетаміном, пропофолом та тіопенталом натрію. Аналіз отриманих результатів дозволив теоретично обґрунтувати, експериментально підтвердити і запропонувати в практику такі параметри як оптимальні дози наркозних препаратів.

4-й розділ присвячений вивченню аналептичної та антигіпоксичної дії гетерозидів в умовах експериментальних наркозів. З метою розробки ефективних засобів профілактики та лікування постнаркозних ішемічно/гіпоксичних ушкоджень тканин головного мозку було проведення досліджень з кількісної (статистично-достовірної) оцінки рівня пробуджуючого ефекту та порівняння в однакових умовах різних оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозидів) в якості нейропротекторів з аналептичною дією були вивчені аналептичні властивості гетерозидів шляхом визначення ефективної пробуджуючої дози гетерозидів на трьох моделях наркозу. Також дослідили і співставили аналептичні та антигіпоксичні властивості досліджуваних речовин, які були випробувані на трьох класичних моделях оцінки антигіпоксичних властивостей в порівнянні з Пірацетамом в якості класичного антигіпоксанта.

Розділ 5 відведений опису результатів вивчення нейропротекторних властивостей гетерозидів в умовах експериментальних наркозів проведено шляхом дослідження впливу нейроанестезії на модуляцію процесів нейроапоптозу та на когнітивно-мнестичні та поведінкові розлади після кетамінового наркозу. На моделях кетамінового та пропофолового наркозів у щурів відтворено постнаркозну активізацію проявів нітрозилуючого стресу як виразний дисбаланс активності NO-синтази, що супроводжувались негативними змінами функціонального стану клітин головного мозку та активізацією процесів апоптозу.

Доведено, що введення щурам на моделях кетамінового та пропофолового наркозів потенційних нейропротекторів інтраопераційного періоду – оригінального похідного сірко- та нітрогенвмісних гетероциклів з аналептичною активністю гетерозиду, нейротрофічного церебропротектору цереброкуріну та ноотропу ноопепту – сприяло стабілізації активності системи оксиду за зростанням активності ендотеліальної NO-синтази на тлі зниження активності iNOS, що призвело до стабілізації площі тіл нейронів та

активності синтезу РНК в них, зниженню показників щільності апоптотично-змінених нейронів та c-fos-позитивних клітин та збільшення експресії bcl-2-білку в складі клітин головного мозку, отже, на цих моделях доведено наявність у гетерозиду, цереброкуруину та ноопепту апоптозомодулюючої активності.

Доведено, що кетамінова анестезія призводить до підвищення тривожної поведінки тварин, збудливості, погіршення дослідницької та пошукової активності на 2 добу, а також в більш віддалені терміни (10 доба) призводить до погіршення мнестичних функцій. Введення відразу після виходу тварин з наркозу ноотропних препаратів – гетерозиду, ноопепту і цереброкуруину по-різному впливало на поведінкові реакції, емоційний статус і когнітивно-мнестичні функції тварин.

Введення гетерозиду тваринам після кетамінової анестезії достовірно знижувало показники тривожної поведінки і збудливості тварин (зниження кількості замирань і неактивності, вільного простору, стійок біля стінки), підвищувало дослідницьку активність, проявляло виражений антиамнестичний ефект (зниження помилок референтної і робочої пам'яті) і підвищувало здатність тварин до навчання (зниження високої і підвищення низької активності).

Доведено, що розвиток експериментального наркозу супроводжувався зміною основних характеристик нейронів сенсорно-моторної зони в тканинах головного мозку щурів – зниженням показників щільності нейронів та площин їх тіл, а також вмісту РНК на тлі збільшення частки апоптотичних клітин в головному мозку експериментальних щурів. Порівняння ефективності експериментальної терапії гетерозидом, цереброкуруином та ноопептом на виразність негативних змін функціонального стану клітин головного мозку при експериментальній гіперглікемії та активність процесів апоптозу в них свідчить, що максимальна нормалізація щільності нейронів та площі їх тіл відзначена в групі гетерозиду.

6-й розділ присвячений комплексній оцінці вивчення нешкідливості гетерозидів в умовах гострої алкогольної інтоксикації проведено шляхом дослідження гострої токсичності гетерозиду-21, гетерозиду-31, гетерозиду-321, визначення особливостей моделі гострої алкогольної інтоксикації, впливу гетерозидів на біохімічні (метаболічні) характеристики організму тварин та встановлення їх антинаркозної дії на моделі гострої алкогольної інтоксикації. Результати дослідів за класифікацією Hodge та Sterner дозволили віднести досліджені гетерозиди до IV класу мало токсичних речовин. На моделі гострої алкогольної інтоксикації доведено, що гетерозид-21, гетерозид-31, гетерозид-321 проявляли аналептичний/антинаркотичний ефект більш ефективно ніж класичний аналептик СКК в дозах в 10-20 разів більших.

Вплив на метаболізм, деструкцію і елімінацію ксенобіотика визначали по зміні активності алкогольдегідрогенази і альдегіддегідрогенази в гомогенаті печінки, концентрації етанолу і ацетальдегіду сироватці крові; токсичний вплив на функцію печінки і нирок – за активністю АСТ і АЛТ і

концентрації креатиніну в сироватці крові після введення досліджуваних речовин на моделі гострої алкогольної інтоксикації. Визначення терапевтичних доз гетерозидів за антинаркотичною дією проводили у відповідності до моделі гострої алкогольної інтоксикації. Аналіз отриманих результатів підтверджує загальну тенденцію того, що незалежно від моделі наркозу (кетамін, пропофол, тіопентал натрію) та наркотичного впливу (етанол) для всіх досліджуваних речовин (СКК та гетерозид-21) зі збільшенням дози істотно знижуються аналептична/антинаркотична дії, а перевищення умовнотерапевтичної дози призводить до парадоксальної реакції – тривалість наркотичного сну продовжується.

Наукова новизна отриманих результатів. Поза сумнівом, ступінь новизни роботи високий, оскільки мова йде про зовсім експериментальне вирішення актуальної задачі сучасної фармакології, спрямованої на підвищення ефективності патогенетичної фармакотерапії неврологічних ускладнень загальної анестезії та наркоз-індукованих нейродегенеративних уражень шляхом використання оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозидів) в якості ефективних нейропротективних засобів з аналептичною дією.

В дисертаційній роботі вперше доведено, що оригінальні похідні сірко- та нітрогенвмісні гетероцикли (гетерозиди) мають нейропротективну дію з аналептичним ефектом і попереджають розвиток когнітивно-мнестичної дисфункції на моделі експериментальних наркозів кетаміном, пропофолом, тіопенталом натрію та встановлено їх перевагу перед сульфокамфокаїном та пірацетамом.

Вперше створено теоретичні основи та експериментально-методологічну базу для цілеспрямованого пошуку оригінальних препаратів з аналептичною дією: розроблено теоретично-практичний алгоритм цілеспрямованого пошуку, синтезу, скринінгу оригінальних нейропротекторів з аналептичною дією, згідно якому на підставі дескрипторно-фармакологічного аналізу та PASS-прогнозування структур класичних аналептиків і 68 віртуальних структур визначено дескрипторності аналептичної дії; дана оцінка можливостей і недоліків програми PASS, а також перспективи її застосування для прогнозування аналептичної активності. Вперше теоретично обґрунтовані, експериментально підтверджені і запропоновані в практику такі параметри як оптимальні дози наркозних препаратів, оптимальний час введення аналептиків на піку наркозу та методика визначення піку наркозу.

Вперше встановлено, що застосування оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди) привело до дозозалежного скорочення тривалості наркозу, відновлення активності дихального центру та поведінкових реакцій тварин на різних моделях наркозів, стабілізує метаболізм постнаркозної кетамінової, пропофолової, тіопенталової та алкогольної інтоксикації та попереджає розвиток нейродегенеративних ускладнень в пост наркозному періоді.

Вперше на моделі експериментальних наркозів кетаміном, пропофолом, тіопенталом натрію досліджено характер впливу препаратів для нейроанестезії на перебіг енергоструктурних процесів у тканині головного мозку, після застосування нейроанестезії визначено нейропатологічний дефіцит та встановлено, що використання оригінальних похідних сірко- та нітрогенвмісні гетероцикли (гетерозиди) сприяє його мінімізації. Встановлено зв'язок їх нейропротективної здатності зі співвідношенням про- та антиоксидантного потенціалів тканин головного мозку, а також роль цих потенціалів в інтенсивності процесів нейродеструкції після застосування кетаміну, пропофолу та натрій оксибутирату.

Вперше встановлено, що кетамінова, пропофолова та тіопенталова анестезії призводить до порушень неврологічного статусу експериментальних тварин на 2 добу, а також в більш віддалені терміни (10 доба) призводить до погіршення когнітивно-мнестичних функцій. Вперше порівняльним аналізом експериментальної нейропротекторної терапії наркотизованих кетаміном, пропофолом та натрій оксибутиратом щурів оригінальними похідними сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди) доведено, що максимальний вплив на виразність негативних змін функціонального стану клітин головного мозку мав гетерозид-321 (нормалізація щільності нейронів) та гетерозид-31 (стабілізація площі тіл нейронів та активності синтезу РНК в них, зниження показників щільності апоптотичних та деструктивно-змінених нейронів в складі клітин головного мозку).

Практичне значення отриманих результатів. Практична значущість роботи визначається тим, що що вперше експериментально доведено та продемонстровано високий терапевтичний потенціал нового підходу до нейропротекції при неврологічних ускладнень загальної анестезії та наркоз-індукованих нейродегенеративних уражень з використанням таргетних ефективних нейропротективних засобів з аналептичною дією – оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди), що відкриває широкі можливості для впровадження в медичну практику запропонованого способу, спрямованого на переривання апоптоз-залежних механізмів нейродегенерації в умовах наркозної та алкогольної інтоксикації.

Згідно з результатами отриманих досліджень спосіб анестезіологічної нейропротекції з використанням оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди) може становити безсумнівний інтерес для практичного застосування з метою профілактики та лікування неврологічних ускладнень загальної анестезії. Разом з тим, виявлені механізми нейропротективної дії похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди) можуть сприяти створенню нового покоління ефективних лікарських препаратів, що надають спрямовану дію на ключові ланки нейродегенеративних змін в терапії постнаркозних ускладнень та критичних станів.

Основні результати досліджень впроваджені в навчальний процес кафедр кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів

фармації НФаУ, кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакології та токсикології Харківської державної зооветеринарної академії, а також науковий процес Харківського наукового центру військової екології, КЗ охорони здоров'я Харківського обласного бюро судово-медичної експертизи, ДУ Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України (Харків) та Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції (Харків).

Апробація результатів дисертації. Основні результати викладені та обговорені на чисельних симпозиумах та конференціях, а також на VIII Національному з'їзду фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016) та ін. Загалом матеріали дисертації повідомлено та обговорені на 8 з'їздах та конференціях, за результатами яких надруковані тези.

Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та відображають основні напрями в цій галузі. Вони викладені лаконічно, що свідчить про відповідні досягнення при розв'язанні поставлених завдань та мети роботи. В якісному і кількісному (6) характері і обсязі вони повністю відповідають матеріалу, опублікованому у фахових виданнях, викладеному в дисертації та авторефераті. Наведені висновки характеризують основні досягнення, які здобуті та викладені в дисертації.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту та оформлення. Дисертаційна робота виконана на високому сучасному рівні, дає привід для наукової дискусії. Назва дисертації повністю відповідає змісту. Висновки аргументовані і базуються на великій кількості експериментальних даних. В дисертаційній роботі та авторефераті суттєвих недоліків не виявлено. І дисертація і автореферат написані красиво, логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення.

Рукопис дисертації та автореферат, на жаль, як і будь-яка інша робота, не позбавлені недоліків оформлення, зокрема наявності не зовсім чітких та вдалих речень (с. 7, 60, 158 і т.д.), стилістичних (с. 149, 177, 192 та ін.) і орфографічних помилок, які утруднюють сприйняття матеріалу, але ніяким чином не знижують загальну високу оцінку виконаної роботи. Інші зауваження зроблені в окремих розділах та на полях рукопису.

Крім того, хотілося б почути точку зору дисертанта на питання, що виникли у процесі роботи з дисертацією:

1. Для оцінки профілактичної дії гетерозиду-321 на ЦНС більш доцільним було б проводити розрахунок індексу тяжкості неврологічних порушень. Розрахунок даного показника дозволяє з досить високою точністю описати стан тварин: від фізіологічної норми до вираженого пригнічення ЦНС - аналога термінальної коми у людини при отруєнні етанолом з пригніченням поведінки тварин, глоточного рефлексу, тактильно-больової чутливості, зрачкового рефлексу і т.д.
2. Для оцінки вираженості алкогольної нейротоксичності і захисної дії гетерозиду-321 необхідно визначати маркери нейродеструкції - NR2,

S100, матриксних металопротеїнази-9, білків щільних контактів.

3. В основі нейродеструкції в умовах гострої алкогольної інтоксикації, а також при кетаміновому, пропофоловому, тіопенталовому наркозів лежить нітрозативний стрес, однак при оцінці дії гетерозиду показники цього патологічного процесу, на жаль, не вивчені.
4. Не проведено розрахунок виживання тварин за методом Каплана-Мейєра з розрахунком кумулятивного критерію виживання всередині групи.

Ці зауваження і побажання не є принциповими, не впливають на загальну високу оцінку рецензованої роботи та загальну позитивну оцінку дисертації, а також не зменшують її високу наукову і практичну значимість.

У рамках дискусії хотілося б отримати відповіді на такі питання:

1. У своїй роботі Ви отримали переконливі дані про наявність нейропротективної дії гетерозису 321 в умовах моделювання гострої алкогольної інтоксикації, також при кетаміновому, пропофоловому, тіопенталовому наркозів. Який механізм цієї дії? Це вплив на аміноспецифічні структури мозку або вплив на деякі механізми ендогенної нейропротекції?

2. Загальноприйняте уявлення про механізм дії кетаміну полягає в його антагонізмі NMDA, що передбачає наявність у нього нейропротективного ефекту. Ви демонструєте, що введення кетаміну ініціює апоптоз нейронів гіпокампу і, в подальшому, нейродегенерацію. Чи немає тут протиріч? Поясніть.

3. Відомо, що більшість класичних аналептиків можуть викликати тривожність, роздратування, безсоння і т.д. Вами встановлено анксиолітичну дію гетерозиду 321 після кетамінового наркозу. З чим пов'язана така дія? Це якось можна пояснити з точки зору впливу на нейрони кори і довгастого мозку?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертація Кабачної Ірини Володимирівни «Нейропротекція наркоз-індукованих порушень головного мозку похідними сірко- та азотумісних гетероциклів» являє собою закінчену наукову роботу, що виконана на хорошому методичному рівні із застосуванням сучасних методів на достатній кількості тварин.

Робота має наукову новизну, тому що присвячена встановленню проявів нейропротективної дії з аналептичним ефектом оригінальних похідних сірко- та нітрогенвісних гетероциклів (гетерозиди) та порівняльному аналізу ефективності експериментальної терапії гетерозидами, цереброкурином та ноопептом відносно попередження розвитку когнітивно-мнестичної дисфункції щурів на моделі експериментальних наркозів кетаміном, пропофолом, тіопенталом натрію. Робота володіє практичним значенням, тому що обґрунтовує раціональні підходи до анестезіологічної

нейропротекції з використанням оригінальних похідних сірко- та азотумісних гетероциклів (гетерозиди) може становити безсумнівний інтерес для практичного застосування з метою профілактики та лікування неврологічних ускладнень загальної анестезії.

Таким чином, за актуальністю проблеми, високим методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, їх вірогідністю, обґрунтованістю висновків, ступенем опублікування та загальним науковим рівнем дисертаційна робота Кабачної Ірини Володимирівни «Нейропротекція наркоз-індукованих порушень головного мозку похідними сірко- та азотумісних гетероциклів», що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, є самостійним, завершеним науковим експериментальним дослідженням і повністю відповідає вимогам п. 11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами), а її автор Кабачна Ірина Володимирівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Завідувач кафедри фармакології
та медичної рецептури
Запорізького державного медичного
університету МОЗ України, професор



Завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури
ПІДТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького державного медичного університету
20 р. Підпис