

Отзыв

на автореферат диссертации Щербакова Тараса Владимировича на тему «Экспериментальное обоснование применения факторов роста на основе плазмидных ДНК для предупреждения развития периферических нейропатий, индуцированных малатионом», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.04 – токсикология, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

В современных условиях воздействие факторов химической природы на организм человека представляет наибольшую угрозу для жизни работников профессионально вредных производств, таких как объекты по изготовлению и хранению фосфорорганических соединений, сельскохозяйственные производства.

Фосфорорганические пестициды представляют большую угрозу здоровью для работников сельского хозяйства и населения. В структуре отдаленных последствий воздействия органофосфатов на организм ведущее место отводится поражениям нервной системы. Высокий риск развития подобных состояний может быть связан как с недостаточной эффективностью средств антидотной терапии, так и многообразием механизмов их нехолинергического действия, наиболее характерных в отношении отравлений малатионом.

Известно, что низкая эффективность лечения отдаленных последствий отравлений малатионом может быть обусловлена формированием выраженных органических изменений в структурах периферических проводников и, как следствие, развитием дефицита функционирующих нервно-мышечных синапсов. Учитывая это, в качестве перспективного направления лечения токсических периферических нейропатий представляется использование генноинженерных препаратов, обеспечивающих рост нервной ткани *de novo*, а также нейронального микроокружения.

В связи с этим диссертационная работа Т.В. Щербакова, целью которой явилась экспериментально-теоретическая оценка эффективности применения рекомбинантной плазмидной ДНК, кодирующей наработку в организме факторов роста биологических тканей, для предупреждения развития токсической периферической нейропатии при подостром отравлении малатионом является, несомненно, актуальной.

В работе проведен эксперимент на 450 крысах-самцах линии Wistar массой 230-280 г, включающий воздействие малатиона (внутрижелудочное введение) и внутримышечное введение фармакопейных препаратов и

геннотерапевтических средств на основе рекомбинантных плазмидных ДНК. В качестве контроля использовались интактные группы животных.

Разработанная автором методология исследования основывается на системном, исследовательском и экспериментальном подходах. Был использован комплекс токсикологических, биохимических, молекулярно-биологических и аналитических методов лабораторных и инструментальных исследований, позволяющих исключить ошибки проведения анализа и с высокой точностью установить характер развития поражений периферической нервной системы после внутрижелудочного отравления малатионом.

На основании проведенных исследований Щербаковым Т.В. разработана экспериментальная модель периферической токсической нейропатии при подостром, которая характеризуется поэтапным смешанным повреждением седалищного нерва по типу демиелинизирующего процесса с 14 сут и аксонопатии через 21 сут постинтоксикационного периода, а также обратимым через 14 сут повышением тактильной чувствительности. При разработке модели установлено, что малатион при подостром внутрижелудочном введении в дозе 0,5 ЛД₅₀ за счет выраженной кумуляции и ингибирования холинэстераз головного мозга, печени и крови на протяжении 21 сут позволяет стабильно воспроизвести основные визуальные признаки интоксикации и развитие нейропатии более чем у половины животных.

Автором показано, что фармакопейные нейротропные средства (глиатилин, ипидакрин, мемантин) не предупреждают развития периферической нейропатии после подострого отравления малатионом, но незначительно снижают выраженность характеризующих ее показателей (нервно-мышечная проводимость, тактильная чувствительность).

Анализ результатов экспериментальных исследований показал, что плазмидная ДНК, кодирующая наработку NGF, при курсовом (трехкратном) внутримышечном введении в дозе 250 мкг/кг предупреждает развитие нейропатии в подостром периоде отравления малатионом. Плазмидные ДНК, кодирующие наработку VEGF и IGF, не препятствуют формированию нейропатии, однако снижают выраженность характеризующих ее показателей до уровня, сравнимого с фармакопейными нейротропными препаратами. Фармакокинетика плазмидной ДНК, кодирующей наработку NGF, при использовании метода электропорации характеризуется более чем 2-х кратным повышением ее концентрации в мышце, снижением в 1,5 раза площади под фармакокинетической кривой в плазме крови и 3-х кратным приростом AUC_{tot} в мышечной ткани.

Метод электропорации за счет повышения биодоступности в 1,5 раза, относительного уровня экспрессии гена, кодирующего наработку NGF в 5-7 раз, и 3-кратного увеличения концентрации целевого белка NGF в плазме крови существенно повышает эффективность лечебного действия плазмидной ДНК, которая выражается в достижении терапевтического эффекта при однократном введении препарата.

Для практического внедрения автор предлагает использовать разработанную модель подострого отравления крыс малатионом (трехкратное введение малатиона внутривентрикулярно в дозе 0,5 ЛД50) для оценки эффективности средств, влияющих на нервно-мышечную проводимость. С учетом кумулятивных свойств малатиона для оценки тяжести нарушений нервно-мышечной передачи при подострых отравлениях следует использовать не только показатели угнетения холинэстераз, но и показатели ЭНМГ, свидетельствующие о протекании демиелинизирующих процессов и изменении аксональной передачи.

Для коррекции нарушений нервно-мышечной передачи при лечении токсических нейропатий автор предлагает использование плазмидных ДНК, кодирующих наработку факторов роста NGF и VEGF. Плазмидные конструкции следует использовать в дозах 250 мкг/кг. Пораженным ФОС целесообразно вводить плазмидные факторы роста внутримышечно, так как это способствует более быстрой доставке биоматериала к поврежденным нейронам.

Для обеспечения быстрого восстановления функционирования нервно-мышечных проводников и способствованию обратного развития токсической нейропатии автор предлагает применение метода электропорации, который способствует целенаправленному транспорту генетического материала на основе плазмидных ДНК в поврежденные клетки и ткани, повышает биодоступность рекомбинантных факторов роста, а так же позволяет коррегировать нейропатические процессы в организме в более короткие сроки.

Представленная на отзыв научно-исследовательская работа, выполненная Щербаковым Тарасом Владимировичем, обладает научной новизной, имеет теоретическую и практическую значимость. Основные положения, выносимые на защиту, и сформулированные в работе выводы логично связаны с целью и задачами исследования, вытекают из содержания работы и являются научно обоснованными. Все задачи, поставленные в работе, успешно решены.

Результаты диссертационной работы Щербакова Т.В. широко представлены на различных конференциях, конгрессах, в том числе с

международным участием. По теме диссертационной работы опубликовано 6 работ, 3 из них – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Диссертационная работа, изложенная в данном автореферате, может быть рассмотрена как оригинальная, завершенная научно-квалификационная работа. Достоверность результатов диссертации подтверждена тщательным статистическим анализом, обоснованным объемом проанализированного фактического материала, автореферат отражает основные положения диссертационной работы Щербакова Т.В.

Таким образом, актуальность, объем и методы исследования, научная новизна и практическая значимость полученных результатов позволяют считать, что диссертационное исследование, изложенное в автореферате Щербакова Т.В., соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 года №842), предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.04 – токсикология, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Заместитель директора по научной работе,
зав. лабораторией медико-биологических исследований,
доктор биологических наук, профессор
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда
имени академика Н.Ф. Измерова»

105275, г. Москва, Проспект Будённого, 31

Тел. +7 (495) 366-06-09

e-mail: lpkuzmina@mail.ru

Сайт: irioh.ru

« 17 » 01 2019 г. _____ Кузьмина Л.П.



Подпись Л.П. Кузьминой заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ МТ», к.п.н.

Перфилова О.Е.