

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Спасова Александра Алексеевича на диссертационную работу Соколова Алексея Юрьевича «Нейрофизиологические механизмы патогенеза мигрени и антицефалгического действия средств её лекарственной и немедикаментозной терапии», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.03.01-физиология и 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

**Актуальность избранной темы** определяется высокой распространенностью мигрени, которая является формой первичной головной боли и рассматривается как заболевание, существенно снижающее качество жизни и нарушающее все виды деятельности человека. Поражая наиболее трудоспособные слои населения, мигрень наносит ощутимый даже в государственных масштабах материальный урон, связанный со снижением производительности труда и затратами на лечение, тем самым представляя собой не только медицинскую, но социально-экономическую проблему. В последние годы в области терапии этой цефалгии замечен определенный прогресс, однако и по сей день сохраняется высокая неудовлетворенная потребность в средствах её купирования и профилактики. При этом понимание механизмов действия успешно используемых в клинике препаратов способствует обоснованному поиску новых лекарств и немедикаментозных методов с антимигренозной активностью. В последние годы хорошие перспективы отмечаются при использовании в клинической практике агонистов 5-НТ<sub>1</sub> рецепторов – триптанов, большие надежды клиницисты возлагают на инактиваторы кальцитонин-ген родственных пептидов (CGRP) и их рецепторов. Кроме этого, несмотря на значительное количество экспериментальных и клинических изысканий, многие вопросы патогенеза мигрени до сих пор остаются открытыми, что существенно затрудняет разработку эффективных методов лечения этого заболевания. Поскольку диссертационное исследование Соколова А.Ю. посвящено изучению нейрофизиологических механизмов действия реально применяемых препаратов и поиску средств для терапии мигрени, а также некоторых звеньев её патогенеза, актуальность работы не вызывает сомнений.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Целью данной работы явилось изучение нейрофизиологических механизмов патогенеза мигрени и терапевтического действия ряда лекарственных и немедикаментозных способов её лечения, а также проведение доклинического тестирования фармакологических средств с потенциальной антимигренозной активностью с использованием модели тригемино-васкулярной боли. Для достижения поставленной цели было сформулировано пять задач, успешно решенных в ходе проведения исследований.

Положение 1 и выводы 1 и 2 касаются доказательств того, что сенситизация тригеминальных нейронов 2-го порядка вызывается как менингеальной, так и экстраменингеальной аппликацией провоспалительных агентов, является обратимой, имеет свои нейрофизиологические маркеры (повышение частоты генерации указанными клетками фоновых спайков, снижение порогов активации их кожных афферентов и усиление ответа на электрическое раздражение твердой мозговой оболочки) и дают экспериментальные обоснования коморбидности орофациальных и головных болей. Факты, лежащие в основе указанных положений и выводов, изложены в главе 3, содержащей результаты серий опытов, показывающих, что центральная сенситизация может быть определена путем одновременной оценки фоновой активности нейронов спинального ядра тройничного нерва, порогов их реагирования на раздражение кожных рецептивных полей и ответов на электростимуляцию твердой мозговой оболочки. Выявленные маркеры фармакологически чувствительны, что доказано в опытах с кеторолаком. Особо убедительны

данные эксперимента, впервые показавшего, что инъекция формалина под кожу лицевой поверхности морды сопровождается не только двухфазным увеличением фоновой активности нейронов спинального ядра тройничного нерва, но и аналогичным усилением их ответов на электрическое раздражение твердой мозговой оболочки.

Положение 2 и вывод 3 касаются результатов опытов, проведенных в формате «обратной трансляции» и позволяющих доказательно связать подавление ноцицептивной передачи на уровне тригеминальных нейронов 2-го порядка и антицефалгическую активность препаратов, показанных для применения при цефалгиях (вальпроевая кислота и метамизол). На этой основе выполнены опыты с «прямой трансляцией» препаратов с потенциальной антицефалгической активностью 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин и декстрометорфан + хинидин, подтвердившие предикторный потенциал фармакогенного подавления возбудимости спинального ядра тройничного нерва (положение 3 и вывод 4). Убедительность данного положения подтверждена результатами пилотного клинического исследования, результаты которого изложены в главе 6 диссертации и суммированы в выводе 5.

Положение 4 и вывод 7 являются принципиально важными, так как указывают на общность нейрофизиологического механизма антицефалгического действия немедикаментозных интервенций, в частности электростимуляции блуждающего и большого затылочного нерва (материал главы 7). Эти материалы дали основание для концептуально значимого положения 7 и вывода 8 об универсальном нейрофизиологическом механизме терапевтического потенциала фармакологических и физиотерапевтических подходов к лечению мигрени.

Таким образом, основные положения и выводы диссертации следует считать обоснованными.

#### **Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Достоверность основных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. В их основе лежит большой экспериментальный материал и современные нейрофизиологические методы исследования, пригодные для получения убедительного ответа на поставленные вопросы. Следует отметить современные подходы к планированию опытов, формированию групп, выбору числа животных в группах, адекватному контролю. Для оценки значимости полученных данных автор использовал непараметрические тесты, что продиктовано ненормальным распределением данных и размером выборки в экспериментальных сериях. Все изменения нейрональной активности под действием любых препаратов сравниваются как с исходными значениями до начала их введения, так и с данными контрольной группы, причем как за все время эксперимента, так и в каждой конкретной временной точке.

Научная новизна работы заключается, прежде всего, в получении принципиально новых данных о фармакодинамике ряда препаратов, два из которых уже применяются в схемах лечения мигрени, а три – аргументированно рассматривались автором как средства, претендующие на роль антимигренозных агентов. Так, впервые был продемонстрирован общий нейрофизиологический эффект вальпроевой кислоты и метамизола на супраспинальном уровне ЦНС, проявляющийся в подавлении спайковой активности нейронов таламуса. На основании полученных в острых опытах данных об угнетении возбудимости клеток тригемино-цервикального комплекса было сформулировано представление о наличии у двух фиксированных комбинаций (2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин и декстрометорфан+хинидин) вероятных антицефалгических свойств, что для одной из них (декстрометорфан+хинидин) было подтверждено в открытом клиническом исследовании. Впервые на модели мигрени у животных был выявлен механизм действия нейростимуляционных способов лечения цефалгий.

### **Научно-практическая значимость результатов работы.**

Полученные автором данные имеют важное фундаментальное и прикладное значение. Во-первых, они приумножают существующие представления о физиологии тригемино-васкулярной системы и механизмах формирования головных болей. Во-вторых, они открывают перспективы использования принципиально новых препаратов для лечения мигрени, в том числе путем расширения показаний к назначению фармакологических средств, применяемых в терапии иных заболеваний. В-третьих, они конкретизируют разносторонние возможности экспериментальной модели головной боли на животных, которую целесообразно использовать по всем предложенным автором направлениям научного поиска.

### **Общая характеристика работы. Оценка содержания работы, ее завершенности и оформления.**

Диссертация изложена на 346 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, пяти глав результатов собственных исследований с их обсуждением, общего заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 54 рисунками и 14 таблицами.

*Во введении* представлено обоснование выбора темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту. Автор объективно оценивает научную новизну, теоретическую и практическую значимость своей работы и представляет данные об апробации результатов своего труда.

*В первой главе (обзор литературы)* кратко описана клиническая картина первичных головных болей, освещены распространенность, социально-экономические аспекты и способы лечения мигрени, а также приведена информация об экспериментальных моделях цефалгий, используемых для изучения их патогенеза и преclinical апробации лекарственных средств. На основании тщательного анализа литературных источников подробно описаны современные представления о патогенезе мигрени, представлена роль различных нейроанатомических структур и нейромедиаторных систем в механизмах её формирования.

*Во второй главе (методы исследования)* приводятся сведения об условиях содержания лабораторных животных, их хирургической подготовке к эксперименту, фармакологических средствах и дизайне исследований, а также о способах статистической обработки данных. Раздел богат иллюстрирован фотографиями различных экспериментальных этапов. Автор представляет используемую им методику, фактически описывая электрофизиологическую модель тригемино-васкулярной ноцицепции. Эта модель была адаптирована в соответствии с задачами исследования и представлена на современном научно-техническом уровне. Способ построения перистимульных гистограмм методом постепенного накопления последовательных реализаций электрического раздражения твердой мозговой оболочки, в т.ч. в оригинальном режиме «псевдостимуляции», позволял анализировать одновременно уровень фоновой и амплитуду вызванной нейрональной активности, а также их изменения под влиянием изучаемых препаратов и периферической нейростимуляции. Необходимо отметить, что условия проведения экспериментов не противоречили этическим нормам обращения с лабораторными животными.

*В третьей главе*, состоящей из двух разделов, представлены результаты собственных исследований, посвященных изучению функциональных особенностей нейронов тройничного комплекса в условиях сенситизации, вызванной как интра-, так и экстракраниальными химическими ирритантами. В первом разделе главы показано, что индуцированная дуральной аппликацией смеси стандартных провоспалительных медиаторов сенситизация тригемино-васкулярных нейронов 2-го порядка характеризуется комплексом нейрофизиологических маркеров, чувствительных к кеторолаку – эталонному ненаркотическому анальгетику, использующемуся в abortивной терапии мигрени. Во

втором разделе главы проведена оценка динамики спайковой активности нейронов спинального ядра тройничного нерва в условиях орофациального формалинового теста, которая позволила выявить факт повышения возбудимости указанных клеток при наличии персистирующего воспаления в экстракраниальных тканях, что может объяснять нередкую коморбидность прозопагий и головных болей. Стоит отметить, что каждый из разделов главы снабжен пунктами «Методические дополнения» и «Обсуждение», что существенно облегчает восприятие материала и позволяет формировать целостную и законченную картину описанных в них результатов.

*Четвертая глава* посвящена изучению влияния вальпроевой кислоты (раздел №1) и метамизола (раздел №2) на фоновую и вызванную дуральной электростимуляцией активности клеток вентрального заднемедиального ядра таламуса, являющимся основным супраспинальным релейным центром контроля и проведения ноцицептивной информации от тканей головы к коре. Установлено, что, в целом, эти препараты обладают тормозным действием на нейрональную возбудимость, что может быть одним из компонентов их антимигренозной фармакодинамики. Оригинальным представляется способ кумулятивного назначения исследуемых веществ, что позволяет не только выявлять дозозависимость эффекта, но и существенно экономить лабораторных животных. Глава (как, впрочем, и предыдущая) иллюстрирована наглядными графиками, облегчающими понимание написанного.

*Пятая глава*, самая объемная, состоит из трех разделов и посвящена доклиническому скринингу на модели тригемино-васкулярной ноцицепции препаратов-кандидатов с вероятными антицефалгическими свойствами. В первом разделе приведены результаты исследования фиксированной комбинации 2,4-дихлорбензоат калия + карбамазепин + кофеин, во втором – комбинированного средства декстрометорфан + хинидин, в третьем – блокатора 5-НТЗ рецепторов гранисетрона. В отличие от последнего, оба комбинированных препарата продемонстрировали свойства ингибитора ноцицептивного процессинга в тригемино-васкулярной системе, на основании чего рекомендованы автором к клинической апробации.

В *шестой главе* представлены итоги неконтролируемого клинического исследования эффективности и безопасности фиксированной комбинации декстрометорфан + хинидин в качестве средства профилактики мигрени, основанием для проведения которого послужили позитивные результаты преклинического тестирования указанного препарата, описанные во втором разделе пятой главы. На выборке из 33 пациентов с мигренью разного пола и возраста, страдающих осложненным псевдобульбарным аффектом рассеянным склерозом, было продемонстрировано, что ежедневный прием изучаемого препарата приводит к снижению частоты и интенсивности мигренозных атак. В обсуждении (пункт 4 главы) автор резонно приводит все ограничения проведенного исследования.

В *седьмой главе* описаны результаты изучения механизмов клинической эффективности немедикаментозных методов лечения первичных головных болей, а именно электростимуляций блуждающего (раздел №1) и большого затылочного (раздел №2) нервов. Показано, что оба способа нейромодуляции могут подавлять активность менингеально-чувствительных нейронов спинального тригеминального ядра, что позволяет автору рассуждать об общности механизмов их антицефалгического действия.

В *заклучении* автор кратко суммирует изложенный материал предыдущих глав и подводит итог проведенной работы, соотнося полученные результаты с имеющимися литературными данными.

*Выводы* логично вытекают из содержания диссертации и соответствуют положениям, выносимым на защиту.

*Список литературы* содержит 1136 источников, в том числе 33 работы отечественных и 1103 работы иностранных авторов. В списке представлена литература преимущественно за последние 10-15 лет.

Диссертация написана в классическом стиле, имеет четкое и логичное разделение по главам, разделам и пунктам, легко читается. Обращает на себя внимание оформление подписей к рисункам, где отдельной строкой всегда представлены данные о статистической обработке материала. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

**Публикации и апробация.** По теме диссертации опубликовано 48 печатных работ, из них 22 статьи в реферируемых ВАК журналах, включая зарубежные издания. Основные положения диссертационной работы были доложены на различных научных съездах и конференциях, в том числе с международным участием.

**Вопросы и замечания.** При внимательном прочтении текста диссертации выявлено незначительное число стилистических погрешностей, что, впрочем, можно рассматривать как своеобразный «авторский стиль».

Принципиальных замечаний по работе нет, но, в порядке дискуссии, хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. В главе 5 «Модель тригемино-дуроваскулярной ноцицепции, как способ скрининга препаратов с потенциальной антицефалгической активностью» приведены данные по изучению фиксированных смесей – ДХБКК и ДМХ. При этом автор работы хорошо и научно аргументированно обосновал их. Но при этом не обосновал их дозы и соотношение компонентов, и не привел данных по референтным препаратам. Почему?

2. Если в качестве референтных препаратов рассматривать препараты изученные в главах 3 и 4 (метамизол, гранисетрон, кеторолак, вальпроевая кислота), то они не указаны российскими экспертами в качестве средств для купирования приступа и профилактики мигрени (за исключением вальпроевой кислоты, рекомендованной для профилактики) (Журнал неврологии и психиатрии, 1, 2017, вып. 2, стр. 28-42). Обоснуйте свой выбор препаратов для фундаментальных исследований и какие из них вы предпочитаете использовать в качестве референтных препаратов в главе 5.

3. Почему на модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции вы использовали блокатор 5-НТ<sub>3</sub> рецепторов гранисетрон и не привели данные по препаратам, влияющим на 5-НТ<sub>1</sub> и 5-НТ<sub>2</sub> рецепторы?

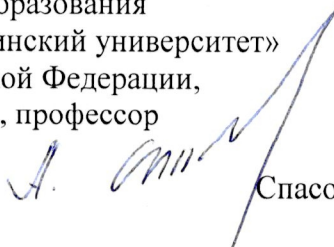
4. Известно, что кеторолак метамизол, как ингибиторы ЦОГ-1,2, оказывают обезболивающее и противовоспалительное действие. Объясните их механизм действия при устранении нейрофизиологических признаков сенситизации нейронов спинального ядра тройничного нерва в ваших исследованиях.

### **Заключение**

Учитывая актуальность темы исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, а также достаточный объем проведенной работы считаю, что диссертация А.Ю. Соколова «Нейрофизиологические механизмы патогенеза мигрени и антицефалгического действия средств её лекарственной и немедикаментозной терапии» является законченной научно-квалификационной работой, в которой разработаны теоретические положения, совокупность которых раскрывает новые нейрофизиологические механизмы патогенеза мигрени и создает на этой основе новые возможности изыскания и изучения средств лекарственной и немедикаментозной терапии, что вносит значительный вклад в физиологию, экспериментальную и клиническую фармакологию. Работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени

доктора наук, а сам автор достоин присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.03.01-физиология и 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор



Спасов Александр Алексеевич

Адрес: 400131, Россия, Волгоград, Площадь Павших Борцов, 1  
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Минздрава России  
e-mail: [aspasov@mail.ru](mailto:aspasov@mail.ru)  
тел.:

« 17 » \_\_\_\_\_ 2019 г.

**Подпись А.А. Спасова заверяю**  
Ученый секретарь Ученого совета ВолгГМУ,  
заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

 А.А. Воробьев

