

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Волковой Анны Александровны на тему: «Изучение физиологических свойств синтетических низкомолекулярных аналогов нейротрофинов NGF и BDNF в моделях болезни Альцгеймера» по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

Актуальность диссертационной работы

Диссертационная работа Волковой Анны Александровны посвящена исследованию мнемотропных свойств низкомолекулярных миметиков нейротрофинов - фактора роста нервов (NGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF), созданных в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина и член-корреспондента РАН Т.А. Гудашевой, в норме и в условиях экспериментального моделирования болезни Альцгеймера.

Несмотря на рост количества страдающих от болезни Альцгеймера во всем мире людей, имеющиеся в клинические препараты направлены на облегчение симптомов заболевания, но не на купирование самого заболевания или на снижение нейродегенеративного процесса.

В связи с этим поиск и создание новых средств лечения болезни Альцгеймера не прекращается. Исследования патогенеза заболевания указывают на вовлеченность в него нейротрофинов, в частности NGF и BDNF. Но применение полноразмерных NGF и BDNF в клинике ограничено. Это связано с их нестабильностью в биологических жидкостях, а также низкой способностью преодолевать гематоэнцефалический барьер. Одним из путей решения этих ограничений является создание низкомолекулярных миметиков нейротрофинов, активных при системном введении, обладающих терапевтическими свойствами полноразмерных белков и лишены их нежелательных побочных эффектов. В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики отдельных петель BDNF и NGF, для которых *invitro* была показана способность активировать тирозинкиназные Trk рецепторы нейротрофинов.

Важно отметить, что в экспериментах *in vitro* миметики разных петель NGF и BDNF обладали разными паттернами активации пострецепторных сигнальных путей Trk рецепторов, а в экспериментах *in vivo* показали отличающиеся наборы фармакологических эффектов по сравнению с полноразмерными NGF и BDNF. Были созданы миметики наиболее экспонированных 4-х петель нейротрофинов, обладающие ярко выраженными нейропротекторными и нейрорегенеративными свойствами, при этом лишены основных нежелательных эффектов, характерных для полноразмерных белков. Такие соединения могут лечь в основу разработки патогенетически обоснованных лекарственных средств лечения болезни Альцгеймера. В связи с вышеизложенным актуальность диссертационного исследования А.А. Волковой не вызывает сомнений.

Основные научные результаты, их новизна

В диссертационной работе А.А. Волковой получены приоритетные данные о наличии мнемотропной активности у миметиков отдельных петель NGF и BDNF в условиях их однократного системного введения и о связи этой активности с выявленными ранее в экспериментах *in vitro* механизмами их действия. Мнемотропный эффект был обнаружен только у соединений ГК-2 и ГСБ-214, которые *in vitro* активировали PI3K/AKT и PLC γ сигнальные каскады без влияния на MAPK/ERK.

Было установлено, что мнемотропная активность ГК-2 и ГСБ-214 в физиологических условиях зависит от дозы, причем кривая доза-эффект имеет куполообразную форму, характерную для препаратов пептидной природы. При помощи фармакологического ингибиторного анализа показано, что мнемотропные эффекты ГСБ-214 зависят от активации TrkB-рецепторов. В условиях экспериментальных моделей болезни Альцгеймера ГК-2 и ГСБ-214 полностью устраняли нарушения памяти у крыс. Впервые было изучено влияние прямого влияния миметиков нейротрофинов NGF и BDNF на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля

CA1 гиппокампа. На амплитуду фокальных потенциалов действия в поле CA1 гиппокампа крысы оказывал влияние только миметик BDNF ГСБ-106, активирующий подобно полноразмерному нейротрофину *in vitro* все основные пострецепторные сигнальные пути Trk рецепторов. Таким образом, в работе получены не только оригинальные данные о соединениях, которые можно рассматривать в качестве потенциальных препаратов для терапии болезни Альцгеймера, но и новые свидетельства вовлеченности сигнальных каскадов во влияния нейротрофинов на синаптическую передачу.

Научно-практическая значимость работы

Полученные диссертантом данные о положительных эффектах соединений ГК-2 и ГСБ-214 в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера могут лечь в основу для разработки нового класса препаратов для терапии этого заболевания с нейротрофинергическим механизмом действия. Такие препараты могут не только замедлять или останавливать нейродегенерацию, но и восстанавливать пластичность мозга за счет стимуляции регенеративных процессов. Научно-теоретическое значение работы А.А. Волковой заключается в том, что полученные новые знания о связи фармакологической активности миметиков NGF и BDNF с картиной активации ими пострецепторных сигнальных каскадов Trk рецепторов вносят вклад в понимание механизма действия самих полноразмерных нейротрофинов.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации

Данные, представленные в диссертации А.А. Волковой, основаны на достаточном объеме экспериментального материала, получены с использованием адекватных методов исследования и грамотно обработаны статистически. Экспериментальный материал представлен в виде наглядных рисунков и графиков. Заключение и выводы хорошо обоснованы и сформулированы убедительно и логично. Материалы вошедших в

диссертацию исследований опубликованы в трех рецензируемых научных журналах и доложены на отечественных и международных конференциях, что еще раз подчеркивает актуальность и неподдельный интерес к представленной работе.

Структура диссертации

Диссертация написана по традиционной схеме и состоит из 8 разделов, включая введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, заключение, выводы и список литературы, включающий 29 отечественных и 504 зарубежных источника. Общий объем работы 177 страниц, содержит 28 рисунков и 13 таблиц. В обзоре литературы анализируются основные механизмы, лежащие в основе патогенеза болезни Альцгеймера. Подробно описаны существующие на настоящий момент подходы к терапии заболевания. Представлены современные данные о роли нейротрофинов NGF и BDNF в патогенезе болезни Альцгеймера. Дана развернутая характеристика синтезированным в России и за рубежом низкомолекулярным аналогам нейротрофинов.

Во второй главе подробно изложены методы проведения поведенческих тестов, а также схемы постановки экспериментов. Подробно описаны биохимические и электрофизиологические методы.

Результаты исследований включают изучение мнемотропной активности миметиков NGF и BDNF в норме при однократном введении в тесте распознавания нового объекта, изучение зависимости мнемотропного эффекта ГК-2 и ГСБ-214 от дозы, а также изучение вовлеченности Trk-рецепторов в мнемотропные эффекты ГСБ-214 с использованием блокатора Trk-рецепторов K252A. Далее представлены результаты изучения эффектов ГК-2 и ГСБ-214 на экспериментальных моделях болезни Альцгеймера. Раздел завершается данными о влиянии миметиков NGF и BDNF на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды CA1.

Экспериментальный материал хорошо представлен и проиллюстрирован рисунками.

В следующей главе и ее разделах представлен анализ и обсуждение полученных данных.

В конце подводится итог всей работы и представлены общее заключение и выводы.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова, написана хорошим научным языком.

Общие замечания

Принципиальных замечаний по тексту диссертации нет, имеются незначительные поправки, связанные с компьютерной версткой, которые не умаляют достоинств работы.

В результате прочтения диссертации возникли следующие вопросы:

1. Почему диссертант выбрал именно эти модели болезни Альцгеймера, а не модель с использованием холинотоксина АF-64А.
2. Известны ли диссертанту сведения о роли ангиотензин-превращающего фермента в патогенезе болезни Альцгеймера.

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.5. физиология человека и животных по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Диссертация А.А.Волковой заслуживает положительной оценки и не встречает принципиальных возражений. В качестве пожелания можно отнести предложение о дальнейшем углубленном исследовании и скорейшем внедрении наиболее эффективных подходов в клиническую практику, особенно в свете распространенности в последнее время нейродегенеративных заболеваний.

Диссертационная работа А.А.Волковой достаточно хорошо апробирована на ряде научных конференций и конгрессов, ее основные положения отражены в печатных работах.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Таким образом, соискатель Волкова Анна Александровна вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. физиология человека и животных.

Главный научный сотрудник
Лаборатории психофармакологии
НИИ фармакологии имени В.В. Закусова
Доктор биологических наук, профессор

Н.Н.Золотов

29 ноября 2023

Контактные данные:

ФИО: Золотов Николай Николаевич

Должность, звание

Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, профессор

Место работы и адрес работы: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», лаборатория психофармакологии

Телефон рабочий: +7 495 938 2012

Адрес эл. почты: n.zolotov@pharm.niifz.ru

Специальность, по которой защищена диссертация оппонентом.

14.00.25 – Фармакология

Подпись Н.Н. Золотова заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», к.б.н.



В.А.Крайнсва