

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 темы выполненной работы

Тема, выбранная Анной Александровной Волковой для исследования, становится все более актуальной по мере развития цивилизации. Растет продолжительность жизни людей, и, к сожалению, с возрастом все чаще встречаются деменции пожилого возраста. Среди них существенное место занимает болезнь Альцгеймера (БА). Патогенез нейродегенеративных заболеваний активно изучается. На данный момент обсуждается около десятка патофизиологических изменений, сопровождающих деменции пожилого возраста. Из них, как основные признаки БА, рассматриваются дегенерация холинергических нейронов головного мозга, формирование внеклеточных бляшек, состоящих из агрегированного β -амилоида ($A\beta$) и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного тау-белка. Все это подробно, на современном уровне описано в литературном обзоре диссертации А.А. Волковой. Интернет прекрасен! Список цитированной литературы современного диссертанта составляет треть манускрипта. Подробно описав разнообразные экспериментальные модели БА, автор логично останавливается на использовании блокатора м-холинорецепторов скополамина (холинергическая модель). Стрептозотоциновая модель несколько менее селективна, но по литературным данным, введение этого токсина вызывает патологические изменения, характерные для БА.

Среди большого количества стратегий терапии БА А.А.Волкова выбрала регуляцию рецепторов нейротрофинов, в частности, фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) и мозгового нейротрофического фактора (brain-derived neurotrophic factor, BDNF). NGF и BDNF влияют на пролиферацию, дифференцировку, поддержание жизнеспособности и функционирования нейронов, а также участвуют в процессах обучения и памяти. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина и член-корр. РАН Т.А. Гудашевой давно и успешно разрабатываются лекарственные препараты на фармакофорах биологически активных пептидов. В работе А.А.Волковой были использованы димерные дипептидные миметики наиболее экспонированных участки петлеобразных структур NGF и BDNF, синтезированных в этом институте. Изучено влияния низкомолекулярных миметиков нейротрофинов на поведение животных в ряде тестов. В результате скрининга 5 препаратов установлено, что при остром внутрибрюшинном введении в тесте распознавания нового объекта мнемотропной активностью обладают миметик NGF ГК-2 и миметик BDNF ГСБ-214. С моей точки зрения, в процессе этой части исследования были получены дополнительные результаты. Наиболее выраженные эффекты наблюдались в группах животных с исходно относительно низкой памятью. Анна Александровна отметила, что эти животные были старше остальных. Т.е. повышение эффективности препаратов происходит на фоне возрастных нарушений, что характерно для пептидов, обладающих, как правило, гомеостатическим действием. Кривая доза-эффект мнемотропной активности ГК-2 и ГСБ-214 имеет колоколообразную форму, что также характерно для пептидных препаратов. Подобная зависимость отмечается и для полноразмерных NGF и BDNF, это связывают с активацией низкоаффинных рецепторов p75NTR, сопряженных с доменом смерти и стимулирующих апоптоз. В данной работе ингибиторный анализ показал, что мнемотропные эффекты ГСБ-214

реализуются через взаимодействие с TrkB-рецепторами. Возможен ли для этих пептидов р75NTR опосредованный механизм действия?

Когнитотропные свойства ГК-2 и ГСБ-214 были подтверждены на скополаминовой и стрептозотоциновой моделях БА в тесте распознавания нового объекта. В тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный, Т-, и Y лабиринт» изменений не наблюдалось. Подтверждением релевантности использованной стрептозотоциновой модели БА послужило изменение иммунореактивности предшественника β -амилоида APP в мозге крыс. Однако ГСБ-214 не повлиял на этот показатель. По-видимому, терапевтический эффект этого пептида напрямую не связан с β -амилоидной патофизиологией БА. Важным диагностическим критерием БА считаются видимые анатомические изменения в мозге больного. Удалось ли автору увидеть подобные изменения при вскрытии экспериментальных животных?

В экспериментах *in vitro* показано, что ГК-2 и ГСБ-214 активируют PI3K/AKT и PLC γ сигнальные пути, не оказывают влияния на MAPK/ERK. Электрофизиологическое исследование, проведенное А.А. Волковой, не влияет на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля CA1 гиппокампа. При этом миметик BDNF ГСБ-106, активирующий *in vitro*, подобно полноразмерному нейротрофину, все основные пострецепторные сигнальные пути Trk рецепторов, увеличивал амплитуду фокальных потенциалов действия в поле CA1 гиппокампа крысы, но не обладал мнемоторным эффектом. Автор предполагает, что когнитотропные свойства ГК-2 и ГСБ-214 обусловлены несинаптическими механизмами. Можно уточнить, какими?

Работа проведена на высоком и разнообразном методическом уровне. Статистический анализ данных проведен безупречно в соответствии с современными стандартами. Результаты изложены очень убедительно, хорошо проиллюстрированы. Диссертация 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 источников. Общий объем работы 177 страниц, содержит 28 рисунков и 13 таблиц.

Научная новизна диссертационного исследования А.А. Волковой заключается в установлении мнемотропной активности миметика NGF ГК-2 и миметика BDNF ГСБ-214. Мнемотропная активность ГК-2 и ГСБ-214 зависит от дозы и опосредована активацией TrkB-рецепторов. Впервые когнитотропные свойства ГК-2 и ГСБ-214 подтверждены на скополаминовой и стрептозотоциновой моделях БА. Впервые изучено влияние прямой аппликации миметиков нейротрофинов на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля CA1 гиппокампа.

Теоретическую значимость имеют установленные мнемотропные свойства дипептидных миметиков отдельных петель нейротрофинов и их связь с активацией пострецепторных сигнальных путей.

Исследование А.А. Волковой имеет несомненную **практическую значимость**. Полученные в результате работы данные о положительных эффектах миметиков в экспериментальных моделях позволяют разработать принципиально новую стратегию фармакологической коррекции нарушений памяти. Активные дипептидные миметики нейротрофинов могут послужить основой для разработки нового класса препаратов для терапии болезни Альцгеймера. Таким образом, актуальность и новизна, полученных диссертантом данных, их теоретическая и практическая значимость очевидны.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

Достоверность представленных данных подтверждается достаточной величиной выборок животных и использованием адекватных методов статистической обработки. Сделанные выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Представленные в автореферате и публикациях А.А. Волковой результаты полностью отражают проведенные исследования. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

Работа хорошо структурирована и логична. По теме диссертационной работы опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, индексируемых аналитическими базами Scopus, Web of Science, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных и 1 патент.

Заключение

Диссертационная работа А.А. Волковой на тему «Изучение физиологических свойств синтетических низкомолекулярных аналогов нейротрофинов NGF и BDNF в моделях болезни Альцгеймера» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной и актуальной задачи: изучение мнемотропной активности низкомолекулярных миметиков нейротрофинов NGF и BDNF в норме и на моделях болезни Альцгеймера. Результаты исследования имеют большое значение для физиологии, патофизиологии, фармакологии и медицины.

По актуальности, научной новизне и практической значимости работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г, №842, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, А.А. Волкова, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

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.

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

1 декабря 2023

Главный научный сотрудник
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
д.б.н., профессор

Н.В.Кост

Подпись Н.В.Кост заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
д.м.н., профессор



А.Н.Бархатова

Контактные данные :

ФИО

Кост Наталия Всеволодовна

Должность, звание

Главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, доктор биологических наук, профессор

Место работы и адрес работы

Федеральное государственное бюджетное научное учреждения «Научный центр психического здоровья» (Минобрнауки России) 115522, Москва, Каширское шоссе 34

Телефон рабочий

8(495)109 03 93 доб.3901

Адрес эл почты рабочей: _____

Специальность, по которой защищена диссертация оппонентом.

14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология