

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Павловой Галины Валерьевны на диссертационную работу Логиновой
Марии Максимовны «Роль нейрональных киназ в адаптации ЦНС к
воздействию факторов ишемии», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология
человека и животных.

Актуальность работы

Ишемический инсульт – одна из самых серьезных проблем человечества, приводящая к инвалидизации пациентов. При ишемическом инсульте отягчающими обстоятельствами признаются длительное нарушение циркуляции крови и кислородное голодание в клетках, что приводит к гибели тканей. Актуальным является поиск новых подходов к терапии с использованием факторов, способных повысить жизнеспособность нейронов после ишемической атаки. Одно из интересных и перспективных направлений – это поиск и блокада киназ для улучшения выживаемости нейронов. Автор посвятил свою работу именно такому исследованию. Как было показано в работе - одна из основных лидер-киназ, чье ингибирирование улучшает жизнеспособность нейронов при гипоксии и при глюкозной депривации RIPK1.

По результатам многих мировых работ киназа RIPK1 признана многообещающей терапевтической мишенью для лечения воспалительных процессов человека и широкого спектра нейродегенеративных, аутоиммунных заболеваний. Было показано, что RIPK1 является ключевым медиатором апоптотической и некротической гибели клеток, а включает каскады воспаления. Разрабатываются низкомолекулярные ингибиторы RIPK1, способные проникать через гематоэнцефалический барьер. Показано, что ингибиторы RIPK1 действуют на нейровоспаление и предотвращают гибель клеток тем самым улучшая прогноз при болезни Альцгеймера, рассеянном склерозе, а также при неврологических заболеваниях, таких как

инфаркт и черепно-мозговые травмы. В связи с этим актуальность данной работы неоспорима.

Характеристика основного содержания диссертации

Диссертация Логиновой М.М. состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы и приложения. Диссертация представлена на 152 страницах, содержит 48 рисунков, 2 таблицы и 234 источника литературы.

В введении описывается актуальность работы, формулируются цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту, отражается научная новизна и научно-практическая значимость исследования.

В обзоре литературы диссидентант представляет литературные данные по ишемическому каскаду и роль киназ в данном каскаде. Большое внимание уделяется самим ферментам киназам и их положению в сигнальных внутриклеточных каскадах, запускаемых при ишемическом повреждении. В обзоре литературы приводятся, в основном, публикации последних лет.

В материалах и методах подробно описываются методики, которые применяются в данной работе. Логиновой М.М. были соблюдены все биоэтические моменты при проведении исследования. В диссертации применяются современные методы исследования. Статистический анализ данных, также, выбран корректно и соответствует задачам работы.

Результаты диссертации представлены грамотно и подробно. В конце данной главы приводится подробное обсуждение результатов.

В разделе 3.1 диссидентант провел скрининговое исследование воздействия 85 ингибиторов внутриклеточных киназ на жизнеспособность первичных культур нервных клеток в условиях нормы и при моделировании глюкозной депривации, тем самым поделив киназы на 5 функциональных групп и выбрав ключевые киназы для дальнейшего исследования.

В разделе 3.2 ключевые киназы, чья блокада оказала нейропротекторный эффект при моделировании глюкозной депривации,

были исследованы диссидентом на влияние на жизнеспособность клеточных культур при другом стресс-факторе – гипоксии. По результатам данного исследования были отобраны киназы, блокада которых проявила наиболее выраженный нейропротекторный эффект, и ими явились SRC, IKK β , eEF2K, FLT4 и RIPK1.

В разделе 3.3, 3.4 и 3.5 исследовалось влияние блокады данных киназ при моделировании гипоксии на сетьевую активность первичных культур гиппокампа мозга мыши. В данных разделах диссидентом было выявлено, что блокада киназ SRC, IKK β и RIPK1 способна частично поддерживать функциональную кальциевую активность, а блокада киназы RIPK1 еще и способна поддерживать биоэлектрическую активность нейрон-глиальных сетей в постгипоксическом периоде.

В разделе 3.6, 3.7 и 3.8 для подтверждения данных, полученных на клеточных культурах, Логинова М.М. также исследовала применение блокаторов SRC, IKK β и RIPK1 при моделировании острой гипобарической гипоксии и ишемии на мышах. Была показана роль ингибитора киназы RIPK1 в повышении устойчивости животных к воздействию острой гипобарической гипоксии, что очень хорошо согласуется с имеющимися литературными данными.

В заключении диссидентом приводятся кратко и емко сформулированные этапы исследования. Выводы полностью отражают, полученные результаты и соответствуют цели и задачам диссертации.

В целом, в работе применяются современные методы, и она является законченным квалифицированным исследованием. Достоверность полученных данных подтверждается применением надежных верифицированных методов и воспроизводимостью полученных результатов.

Замечания и вопросы

1. Ни у одного рисунка в литературном обзоре нет ссылки на источник.
2. Рисунок 19 малоинформативен. Столь большой объем данных на одной гистограмме не позволяет оценить результат.

3. Рисунок 22. Фотографии неинформативны, падение количества нейронов в культуре не видно. Кроме того, утверждение, что «следует отметить фрагментацию нейронов» не подтверждается рисунком 22.
4. Не корректно понятие «медленная длительность».
5. Утверждение, что «блокада eEF2K негативно сказывается на метаболической кальциевой активности» недостоверно по данным представленным на рисунке 26.
6. К рисунку 29. Хорошо бы сделать единый график, где будет представлены в сравнении свойства клеток *in vitro* в норме, после воздействия гипоксии и после воздействия глюкозной депривации.
7. В рисунке 29 А и Б – подписаны одинаково. В чем разница?
8. На странице 69 после описания рисунка 30 автор начинает ссылаться на рисунки 33 и 36, перепрыгивая через 31 и 32. Это сильно утяжеляет логическую цепочку повествования.
9. В разделе 3.6 появляется сокращение ОГБГ, которое ранее не вводилось и не расшифровано как острая гипобарическая гипоксия.
10. В результате обсуждения рисунка 44, где описывается влияние блокады исследуемых киназ на распределение животных по степени устойчивости к гипоксии, хотелось бы услышать мнение доктора по поводу, что все же лучше отсутствие низкоустойчивых животных или высокий процент высокоустойчивых?
11. В тексте при описании рисунка 45, не описываются данные 45А. Кроме того, на рисунке нет пояснения, что обозначают А,Б,В.
12. На 47 рисунке также нет пояснения, что обозначают А,Б,В.
13. В обсуждении существенный объем текста посвящен описанию киназ, причем многие из них отмечены автором в ходе исследований. Например, eEF2K посвящена целая страница, хотя непонятно зачем про нее писать, если эта киназа была убрана из исследований *in vivo*.
14. Автор пишет: «Блокада IKK β оказывала нейропротекторный эффект, сохраняя процент жизнеспособных клеток, однако данный эффект не

распространялся на сохранение функциональной целостности нейрон-глиальной сети при моделировании факторов ишемии. Причем в экспериментах на моделях ОГПГ и ишемии *in vivo* ингибирование IKK β , напротив, снижало выживаемость животных». Хотелось бы пояснений от автора.

15. Основной интерес у автора к блокаде RIPK1 киназы, но ведь почему-то она активизируется при повреждениях? Какова ее роль? И каковы опасности ее ингибирования? Хотелось бы, чтобы автор осветил и этот вопрос.

16. В тексте очень много грамматических ошибок, встречаются страницы, где обнаруживается по три ошибки.

Изложенные замечания не являются принципиальными и не снижают общего положительного впечатления от работы.

Степень обоснованности научных положений, результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Основные положения, выносимые на защиту сформулированы корректно и отражают новизну и оригинальность диссертационной работы. Логиновой М.М. выполнено законченное квалифицированное исследование с получением обоснованных результатов, согласующихся с опубликованными работами независимых исследований других авторов. Результаты работы были представлены на всероссийских и международных конференциях, по полученным данным было опубликовано 6 статей в реферируемых журналах, входящих в перечень ВАК (из них 4 категории Q1 и 1 категории Q2 входящих в базы Scopus и WoS). Выводы полностью отражают полученные результаты и представляют достаточный научно-практический интерес.

Заключение

Диссертационное исследование Логиновой Марии Максимовны «Роль нейрональных киназ в адаптации ЦНС к воздействию факторов ишемии» является законченной научно-квалификационной работой, которая по своему содержанию соответствует критериям и требованиям, установленным

«Положением о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842). Логинова М.М. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

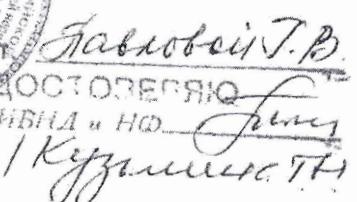
Официальный оппонент

Зав. лабораторией нейрогенетики
и генетики развития Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки Института высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН,
доктор биологических наук, профессор РАН

 Павлова Г.В.

Подпись Павловой Г.В. заверяю:




Павлова Г.В.
ДОСТОЗЕРЯЮ
Геннадий Иванович
Кузьминичев

10.02.2023 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

117485, Россия, Москва, ул. Бутлерова, 5А

+7 (495) 334-70-00

admin@ihna.ru