

**Отзыв официального оппонента  
Ильчibaевой Татьяны Витальевны**

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.

**Оценка актуальности исследования диссертации**

Поиск способов защиты головного мозга при развитии патологических процессов, опосредуемых гипоксией, представляет собой острую социально значимую проблему для мирового здравоохранения. Несмотря на то, что в последние годы активно разрабатываются подходы к коррекции последствий церебральной ишемии, эффективных методов, которые бы доказали свою высокую нейропротекторную эффективность при минимальных побочных эффектах до сих пор нет, что продолжает привлекать исследователей и мотивировать их на поиск эффективных способов коррекции гипоксических повреждений.

Киназы, посредством которых проходит практически каждый процесс передачи сигнала в клетке, рассматриваются в качестве потенциальных нейропротекторных мишений при действии различных стресс-факторов.

Работа Логиновой М.М. как раз посвящена оценке роли нейрональных киназ, относящихся к разным семействам, в адаптации центральной нервной системы к ишемическим воздействиям и представляется весьма целесообразной и актуальной.

**Основные научные результаты, их новизна**

Диссертационная работа Логиновой М.М. изложена по традиционной схеме: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и литературы и приложение. Работа написана на 152 страницах, имеет 48 рисунков, 2 таблицы и 1 приложение.

В вводной части диссертации описана актуальность и научная новизна исследования, сформулированы цель и задачи, описана научно-практическая значимость исследования, указаны основные положения, выносимые на защиту. Данный раздел написан грамотно и аргументировано.

Обзор литературы, сопровождающийся хорошо проиллюстрированным материалом, представлен детальной и актуальной информацией из публикаций научных статей последних лет. Логинова М.М. описала процессы, характеризующие ишемический каскад, и роль киназ в ишемическом повреждении. Самим киназам посвящена значительная часть обзора, в котором подробно рассматриваются внутриклеточные сигнальные пути, задействованные при ишемии. Однако, ощущается некоторая нехватка отдельного описания ингибиторов киназ, как удачного инструмента для изучения их функции и коррекции различных патологических состояний.

В разделе «Материалы и методы» подробно описываются используемые в работе методы. Методы исследования адекватны поставленным задачам. Большая часть работы Логиновой М.М. выполнена на первичных культурах нервных клетках головного мозга мыши, что является идеальной моделью для скрининга различных соединений. Следует отметить важность использования таких методов, как кальциевый имиджинг и регистрация электрической активности на мультиэлектродных матрицах, для получения целостной картины об эффективности применения блокаторов киназ при моделировании гипоксии.

Диссертационная работа была выполнена на достаточном количестве экспериментального материала. Данные проведенных исследований были подвергнуты корректному статистическому анализу, что не позволяет усомниться в достоверности полученных результатов.

В результатах представлены экспериментальные данные, полученные, как на клеточных культурах, так и на животных. На первом этапе диссертантом был проведен масштабный скрининг 85 высокоселективных и низкоселективных ингибиторов киназ. Были сформированы группы киназ, на основании эффекта, оказываемого на оценку жизнеспособности первичных культур нервных клетках при

блокаде киназ в физиологических условиях и при моделировании глюкозной депривации. Затем диссертантом были выбраны киназы, блокада которых вызывала достоверное увеличение жизнеспособности в условиях глюкозной депривации, и исследованы на влияния при другом ишемическом факторе – гипоксии. По результатам скрининга были отобраны следующие ингибиторы киназ: SRC, IKK $\beta$ , eEF2K, FLT4 и RIPK1. Вторым этапом работы диссертант оценил влияние блокады данных киназ на функционирование нейрон-глиальной сети при моделировании гипоксии. Значимым результатом данной оценки явилось, что блокада киназы RIPK1 частично поддерживает как кальциевую, так и электрическую активность культур нервных клеток, что прекрасно дополняет имеющие данные о благоприятном воздействии ингибирования данной киназы при факторах ишемии. Эксперименты на животных, также продемонстрировали и подтвердили положительное влияние ингибирования RIPK1 киназы на выживаемость и устойчивость лабораторных животных к гипоксическому и ишемическому повреждению.

В обсуждении результатов представлена интерпретация полученных результатов с использованием актуальных источников литературы.

Заключение отражает кратко описанные результаты исследования. Выводы сформулированы четко и грамотно и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

**Научные положения**, выносимые на защиту, сформулированы на основе научно-обоснованных теорий из опубликованных научных материалов и не противоречат результатам, полученным диссидентом.

Результаты, которые получил диссидент, позволяют расширить уже имеющие фундаментальные данные о роли блокады киназ в условиях ишемического повреждения, что, несомненно, делает данную работу новой и значимой. Также, полученные результаты опубликованы в рецензируемых журналах и в материалах конференций: 6 статей в журналах, входящих в перечень ВАК, и 15 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций. Также в рамках темы диссидентии было выпущено учебно-методическое пособие.

Ключевые положения диссертационного исследования могут быть включены в образовательный процесс студентов высших учебных заведений медицинского и биологического профилей.

### **Общие замечания**

1. В разделе научная новизна почему-то отсутствует упоминание результатов экспериментов *in vivo*. Несмотря на то что автор в обсуждении находит параллели с уже известными фактами, по моему мнению, не стоило умалять значимость полученных результатов.

2. В разделе материалы и метода не обоснован способ введения ингибиторов киназ. Из обращения к указанным литературным источникам становится понятно, что некоторые используемые соединения не проникают через ГЭБ, поэтому был выбран способ внутрижелудочного введения, однако эта информация на мой взгляд должна была быть указана автором в данном разделе. Также из описания эксперимента *in vivo* не совсем ясно была ли контрольная группа ложно оперированных животных, подвергавшихся гипоксии. Этот вопрос имеет значение, поскольку в качестве анестезии был использован изофлуран, который, как свидетельствуют данные последних 20 лет, способен оказывать защитное действие при ишемическом поражении мозга, таким образом это могло внести небольшой вклад в результаты тестов.

3. Несмотря на то, что достоверность данных не вызывает сомнений, в описании не совсем корректно представлены результаты статистической обработки. Автор оперирует исключительно средними значениями и критерием значимости, однако, не приводит значений статистических критериев, количества степеней свободы и т.д., там, где это имело бы смысл.

4. Также имеется ряд недочетов стилистического характера, орфографических и пунктуационных ошибок, опечаток.

Данные замечания не снижают общее впечатление и не уменьшают научную значимость и качество проведенной работы.

## Заключение

По объему и структуре, актуальности, поставленным цели и задачам, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и положений, выносимых на защиту, диссертация Логиновой М.М. представляет завершенную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком методическом уровне. В связи с вышеизложенным считаю, что диссертационная работа Логиновой М.М., выполненная под руководством к.б.н. Митрошиной Е.В., полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Научный сотрудник лаборатории  
нейрогеномики поведения Федерального  
государственного бюджетного научного  
учреждения «Федеральный исследовательский  
центр Институт цитологии и генетики  
СО РАН», кандидат биологических наук

Ильчибаева Татьяна Витальевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Адрес: 630090, Россия, г. Новосибирск, проспект Лаврентьева, 10  
+7 (383) 363-61-87, icg-adm@bionet.nsc.ru

Подпись Ильчибаевой Т.В. заверяю:

Ученый секретарь ИЦГ СО РАН  
Ильчебаева Т.В.  
31.01.2023г.