

«УТВЕРЖДАЮ»

**Первый проректор - проректор по
научной деятельности**
**ФГАОУ ВО «Казанский
(Приволжский) федеральный
университет» профессор**


А. Таюрский
20 23 г.


ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет» на диссертационную работу Митрошиной Елены Владимировны «Молекулярно-клеточные механизмы нейропротекторного действия BDNF и GDNF при моделировании гипоксии и нейродегенерации», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность диссертационной работы

В связи с ростом продолжительности жизни населения и увеличением стрессорных нагрузок, ведущим к увеличению ишемических и нейродегенеративных заболеваний нервной системы, исследование механизмов адаптации головного мозга к воздействию различных стресс-факторов является одной из приоритетных задач современной нейробиологии и медицины. Изучение молекулярных механизмов, позволяющих нервным клеткам адаптироваться к различным неблагоприятным воздействиям, необходимо для разработки эффективных терапевтических стратегий и способов коррекции неврологических

нарушений. В настоящее время в мире ведется активный поиск способов терапии функциональных нарушений нейронных сетей. Современные методы и технологии позволяют исследовать основные закономерности функционирования нейронных сетей в процессе развития и при действии стресс-факторов *in vitro*. Экспериментальные модели, используемые Митрошиной Е.В. в ее работе (первичные культуры нервных клеток) позволяют подробно изучить молекулярные каскады, которые лежат в основе клеточной резистентности и их непосредственной связи с функциональной активностью клеток на нейросетевом уровне. Нейротрофические факторы BDNF и GDNF, а также другие эндогенные системы, регулирующие устойчивость организма к гипоксии, вызывают пристальное внимание большого круга исследователей во всем мире.

Учитывая вышесказанное, тема диссертационного исследования Митрошиной Елены Владимировны, посвященная изучению молекулярно-клеточных механизмов нейропротекторного действия нейротрофических факторов, является, несомненно, актуальной.

Связь работы с планами соответствующих отраслей наук

Диссертационная работа Митрошиной Е.В. выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

Научная новизна работы

Новизна исследования не вызывает сомнений. Диссертация содержит новые сведения о нейрональных киназах, участвующих в реализации нейропротекторного действия BDNF и GDNF. Впервые показана роль eEF2K, SRC и IKK β в поддержании активности нейронных сетей нейротрофическими факторами BDNF и GDNF. Получены новые данные о взаимодействии изученных нейротрофических факторов и фактора HIF-1.

Автором проведено исследование влияния оверэкспрессии нейротрофического фактора BDNF, индуцированной вирусным вектором AAV-Syn-BDNF-eGFP, на биоэлектрическую и кальциевую нейросетевую активность клеток первичных культур гиппокампа. В работе приводятся новые сведения о нарушениях функционировании нейрон-глиальных сетей при моделировании болезни Альцгеймера 5xFAD *in vitro*. Особый интерес представляют данные, свидетельствующие о том, что хроническое повышение концентрации BDNF поддерживает спонтанную нейросетевую активность и функциональную архитектуру нейронных сетей при моделировании БА и гипоксических повреждений.

Также впервые исследовано влияние модуляции активности фактора HIF-1 с помощью оригинального ингибитора HIF-пролилгидроксилазы при моделировании гипоксического повреждения и β -амилоидоза. Автором продемонстрировано, что стабилизация комплекса HIF-1 сохраняет нейросетевую активность не только при превентивном воздействии, но и при применении соединения в постгипоксическом периоде.

Значимость для науки и практики

Научная значимость выполненной диссертационной работы заключается в полученных автором комплексных данных о механизмах влияния нейротрофических факторов BDNF и GDNF на реорганизацию функциональной активности нейрон-глиальных сетей головного мозга при моделировании гипоксического повреждения и нейродегенерации. Автором выявлены новые киназ-опосредованные механизмы нейропротекторного действия BDNF и GDNF, а также проведены исследования роли фактора HIF в резистентности нейрон-глиальных сетей к повреждающим воздействиям. Научные исследования, проведенные Митрошиной Е.В., имеют существенное значение не только для фундаментальной физиологии, но и для решения прикладных задач. Материалы диссертационной работы являются основой для разработки новых подходов к коррекции нарушений

нейросетевой активности клеток головного мозга при гипоксическом и ишемическом повреждениях и при нейродегенеративных процессах. Полученные данные позволяют в дальнейшем проводить доклинические исследования по оценке нейропротекторного действия нейротрофических факторов и ингибиторов НIF-пролилгидроксилазы с целью разработки новых цитопротекторных препаратов.

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

Структура диссертации

Диссертационная работа Митрошиной Е.В. изложена на 289 страницах машинописного текста, включающего большое количество иллюстративного материала (69 рисунков, 13 таблиц). Структура диссертации традиционная, работа включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, заключение, выводы и список литературы, включающий 514 источников, из которых 501 – работы, опубликованные в иностранных рецензируемых изданиях.

Во **введении** диссидентант обосновывает актуальность проводимого исследования, четко формулирует цели и задачи работы, приводит положения, выносимые на защиту.

В **обзоре литературы** проведен детальный всесторонний анализ актуальных отечественных и зарубежных публикаций, освещдающий основные достижения и проблемы исследований по тематике диссертационной работы. Приводятся сведения о механизмах развития ишемического повреждения и роли отдельных патогенетических факторов в этом процессе, а также имеющиеся сведения о гипоксии как триггере развития болезни Альцгеймера. Изложены существующие экспериментальные данные об особенностях функционирования нейронных сетей при данных патологиях и роли нейротрофических факторов в их

развитии. Литературный обзор написан доступным языком и полностью раскрывает актуальность проведенных исследований. Объем проработанного литературного материала и его качественное обсуждение, свидетельствует о том, что диссертант имеет высокий уровень теоретической подготовки.

В главе «**Материалы и методы**» подробно описываются использованные автором для достижения поставленных целей и задач методики. Методы адекватны поставленным задачам исследования, являются современными и признанными мировым научным сообществом. Использован большой объем экспериментального материала (более 700 диссоциированных культур клеток гиппокампа). Выбор методов исследования соответствует поставленным в диссертации задачам. Приведены сведения об используемых диссертантом статистических методах анализа полученных экспериментальных данных. Проведенный Митрошиной Е.В. комплекс *in vitro* исследований уникален для России и соответствует передовому мировому уровню.

Собственные результаты исследования, изложенные в третьей главе диссертации, хорошо иллюстрированы таблицами, рисунками и диаграммами.

Приведены результаты исследований молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе нейропротекторных эффектов при моделировании гипоксического повреждения, результаты анализа воздействия хронического увеличения уровня экспрессии BDNF на функциональное состояние нейрон-глиальных сетей при моделировании повреждающих факторов, описано действие ингибитора HIF-пролилгидроксилазы Нейроадапта на адаптацию нервных клеток к действию гипоксии и моделированию β -амилоидоза.

В разделе «**Заключение**» диссидентом в лаконичной форме обобщены проведенные исследования и полученные результаты. **Выводы** диссертационного исследования логически вытекают из полученных результатов, соответствуют поставленным в работе целям и задачам.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации

Диссертационная работа выполнена с использованием достаточного количества экспериментального материала и широкого комплекса методов и подходов. Использование соискателем современных методов клеточной и молекулярной биологии, электрофизиологии и адекватных методов статистической обработки данных подтверждают достоверность полученных данных. На основании экспериментальных данных диссертантом сделаны обоснованные выводы. Проведенные исследования были выполнены на мировом уровне, достоверность представленных в работе результатов не вызывает сомнений.

Освещение диссертации в научной печати

Результаты диссертационной работы Митрошиной Е.В. были представлены научному сообществу в виде докладов на всероссийских и международных конференциях, а также опубликованы в более чем 100 научных работах, в число которых входит 40 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus. Следует особо отметить, что 16 статей опубликованы в журналах первого квартиля. Основные положения диссертации достаточно полно отражены в тексте автореферата, выводы и положения, выносимые на защиту, идентичны. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК и отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы к содержанию диссертационной работы

Диссертационная работа производит благоприятное впечатление, недостатков принципиального характера в содержании работы, основных положениях, выносимых на защиту, а, также в выводах рассматриваемой работы нет.

В то же время, есть несколько замечаний и вопросов, требующих дополнительного пояснения:

1. Можете ли вы оценить, погибают ли нейроны и астроциты с одинаковой частотой при моделировании стресс-условий *in vitro*?
2. Считается ли коэффициент корреляции кальциевой активности 0,4 и ниже значимым? Или значение менее 0,5 говорит о том, что связь между клетками отсутствует?
4. Сохраняются ли основные индивидуальные характеристики сети при оценке паттерна активации нейронной сети в процессе развития или моделировании стресс-факторов?

По тексту диссертационной работы выявлены единичные грамматические ошибки и опечатки, а также некоторые стилистические неточности. Следует подчеркнуть, что высказанные замечания не носят принципиального характера и не снижают научной и практической ценности работы.

Заключение

Принимая во внимание актуальность выполненной работы, ее научную новизну, обоснованность выводов, а также их существенную фундаментальную и практическую значимость, можно заключить, что диссертационная работа Митрошиной Елены Владимировны «Молекулярно-клеточные механизмы нейропротекторного действия BDNF и GDNF при моделировании гипоксии и нейродегенерации» является самостоятельным, целостным и завершенным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне, которое полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – «физиология».

Диссертация и отзыв были обсуждены и одобрена на заседании кафедры охраны здоровья человека Высшей школы медицины Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного учреждения высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (протокол № 7 от 30 января 2023 года)

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой охраны здоровья человека
Высшей школы медицины Института
фундаментальной медицины и биологии
ФГАОУВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Зефиров Тимур Львович



«31 » января 2023 г.

Адрес: Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18
Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования
"Казанский (Приволжский) федеральный университет" Сайт <https://kpfu.ru/>
тел.: +7 (843) 233-71-09, +7 (843) 292-92-66; e-mail: Timur.Zefirov@kpfu.ru

Подпись проф. Зефирова Т.Л. заверяю.

