

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Иванова Андрея Дмитриевича «Исследование протекторных свойств нейротрофинов при угнетении синаптической пластичности в гиппокампе бета-амилоидным пептидом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология» и 03.01.03 – «Молекулярная биология»

Диссертация Иванова А.Д. посвящена такой актуальной проблеме нейрофизиологии как участие нейротрофинов в механизмах синаптической пластичности в нормальных условиях и при моделировании нейропатологии альцгеймеровского типа. Нейротрофины – это синтезируемые нейронами и секретируемые белки, которые необходимы для нормальной жизнедеятельности нервных клеток. В последние годы в мировой научной литературе появилось большое количество публикаций, посвященных изучению механизмов действия нейротрофинов и попыткам применения нейротрофинов в качестве терапевтических агентов. В диссертации исследовали два нейротрофина: нейротрофический фактор мозга (BDNF) и фактор роста нервов (NGF). Сочетание новейшего молекулярно-биологического метода (вирусная трансдукция) и электрофизиологического метода (длительная потенциация фокального ВПСП на срезах гиппокампа крысы) позволили автору получить новые важные данные о способности NGF противодействовать ингибиторному эффекту бета-амилоидного пептида на длительную потенциацию (LTP) в гиппокампе.

Диссертация занимает 82 страницы машинописного текста, написана хорошим литературным языком, иллюстрирована 12-ю рисунками и имеет мало опечаток. Список цитируемой литературы содержит 147 публикаций, 41 из которых опубликована в последние 5 лет. Структуру диссертации нельзя считать вполне традиционной, поскольку отсутствует отдельная глава «Обсуждение результатов». Автор предпочитает обсуждать результаты не в отдельной главе, а сразу после описания каждой серии экспериментов. На мой взгляд, это допустимо.

В главе I «Обзор литературы» основное внимание уделено описанию синтеза, транспорта, функций и механизмов действия двух нейротрофинов- BDNF и NGF. Это описание достаточно подробное и грамотное. Другой вопрос, рассматриваемый в обзоре, касается происхождения и патологического действия бета-амилоидного пептида. Здесь автор коротко останавливается на таком известном эффекте бета-амилоида, как угнетение LTP. К сожалению, описанию известных сегодня механизмов этого эффекта бета-амилоида автор не касается. Стоило уделить этому вопросу больше внимания, поскольку угнетение LTP бета-амилоидом автор изучал в своих экспериментах.

Во 2-ой главе «Методы исследования» автор описывает три используемых в экспериментах метода: 1) генно-инженерная конструкция лентивирусных систем для обеспечения экспрессии генов NGF и BDNF; 2) электрофизиологический метод регистрации фокальных ВПСП от зубчатой фасции срезов гиппокампа мозга крысы; 3) иммунофлуоресцентный метод для количественной оценки BDNF и NGF в гиппокампе. Методы используются грамотно и адекватны поставленным задачам.

Главы 3-6 посвящены описанию полученных автором результатов, основные из которых состоят в следующем. Инъекция в зубчатую фасцию гиппокампа крыс суспензии лентивирусных частиц, состоящих из вектора рCMV, несущего гены NGF и BDNF, приводит к локальному двукратному увеличению концентрации этих нейротрофинов. Крысы с увеличенным уровнем NGF оказались устойчивыми к действию бета-амилоидного пептида на длительную потенциацию в гиппокампе. В этой группе крыс бета-амилоидный пептид не вызывал угнетения длительной потенциации. В то же время у крыс с увеличенным уровнем BDNF такого признака выявлено не было и длительная потенциация в гиппокампе подавлялась бета-амилоидным пептидом так же, как и в контрольной группе. Механизмы защитного действия NGF предположительно связаны с активацией каскада TrkA/фосфатидилинозитол-3 киназа, о чем свидетельствует подавление эффекта NGF специфическим ингибитором этой киназы. Отсутствие защитного эффекта у BDNF автор объясняет возможным негативным действием бета-амилоидного пептида на рецепторы TrkB, которые являются специфической мишенью для BDNF. В подтверждение этого автор приводит убедительные литературные данные. Выводы отражают содержание диссертации и соответствуют поставленным задачам.

Хотелось бы высказать замечание по поводу того, что автор не уделил должного внимания возможным изменениям амплитуды ВПСП в группе крыс с повышенным содержанием BDNF в гиппокампе. Данные литературы свидетельствуют о том, что BDNF способен сам по себе без тетанизации вызывать длительную потенциацию ВПСП в гиппокампе (BDNF-LTP), при которой происходит трехкратное увеличение амплитуды ВПСП. Представляло интерес выяснить проявляется ли этот эффект в условиях экспериментов, проводимых диссертантом, т.е. при инъекции в гиппокамп лентивирусных частиц, состоящих из вектора рCMV, несущего ген BDNF. Желательно было представить в диссертации выраженные в милливольт-секундах средние величины амплитуды ВПСП в контрольной группе и BDNF-группе, а также представить кривые зависимости стимул-ответ в этих группах и проследить имеется ли сдвиг кривой по горизонтальной оси в BDNF-группе. Поскольку таких данных в диссертации не было представлено, остаётся предполагать, что заметного изменения ВПСП в BDNF-группе не было. Но в таком

случае автору надо было бы объяснить, почему в его экспериментах не проявляется этот известный эффект BDNF.

Высказанное замечание, однако, не является принципиальным и не снижает высокой оценки работы. Главным достижением диссертанта является подтверждение возможности внедрения с помощью генных векторов в нейроны головного мозга нужных генов, которые в дальнейшем проявляют стабильную высокую активность и способны благотворно влиять на работу мозга и снижать негативное действие патогенных факторов. В работе впервые показано отличие между NGF и BDNF в способности противодействовать ингибиторному действию бета-амилоидного пептида на LTP в гиппокампе, а также опосредование эффекта NGF каскадом TrkA/PI3K.

Результаты работы опубликованы в 3 статьях в рецензируемых журналах, в том числе в журнале *Neuroscience* (импакт фактор 3,4), а также неоднократно доложены на конференциях в России и за рубежом.

Результаты диссертации имеют несомненную ценность для области биомедицинских исследований, связанной с поиском новых терапевтических агентов для лечения нейродегенеративных заболеваний. Это научное направление является, безусловно, перспективным и может получить дальнейшее развитие во многих научных учреждениях России, в частности, в Институте ВНД и нейрофизиологии РАН, Научном центре неврологии и др. Выводы работы могут быть применены в образовательном процессе при подготовке студентов биологических и медицинских специальностей, в частности, в МГУ им.Ломоносова.

Диссертация соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология» и 03.01.03.-«Молекулярная биология».

Доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Научный центр неврологии»



Е.И. Солнцева

Адрес: 105064, г. Москва, пер. Обуха, д. 5. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии».  
Телефон: 8 909 642 77 58. E-mail: soln@front.ru

Подпись д.б.н. Солнцовой Е.И. заверяю.  
Ученый секретарь ФГБНУ «Научный центр неврологии»

к.м.н.



Е.В.Гнедовская