



УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора ИТЭБ РАН

д.ф.м.н., проф. \_\_\_\_\_ Акатов В.С.

« 25 » сентября 2019 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук

Диссертационная работа «Роль метаботропных рецепторов глутамата в нейродегенеративных повреждениях гиппокампа, вызванных нейротоксинами» выполнена в лаборатории экспериментальной нейробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН). В период подготовки диссертации соискатель Першина Екатерина Викторовна работала в лаборатории экспериментальной нейробиологии в должности исполняющего обязанности младшего научного сотрудника, затем младшего научного сотрудника.

В 2013 году Першина Екатерина Викторовна закончила технологический факультет Воронежского государственного университета инженерных технологий по специальности «Биоинженерия и биоинформатика». С 2013г по 2015г обучалась в магистратуре Пушчинского государственного естественно-научного института по направлению «Биология». С 2015г по 2019г обучалась в очной аспирантуре Пушчинского государственного естественно-научного института по специальности «Физиология». Диплом об окончании аспирантуры № 105024 3987368 с информацией о сдаче кандидатских экзаменов выдан 31.08.2019 Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Пушчинский государственный естественно-научный институт».

Научный руководитель: доктор биологических наук, Архипов Владимир Иванович, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной нейробиологии ИТЭБ РАН.

По итогам обсуждения диссертации «Роль метаботропных рецепторов глутамата в нейродегенеративных повреждениях гиппокампа, вызванных нейротоксинами» принято следующее заключение:

1) **Оценка выполненной работы.** Диссертация Першиной Екатерины Викторовны является научно-квалификационной работой и посвящена исследованию роли

метаботропных рецепторов глутамата в нейродегенеративных повреждениях гиппокампа. Результаты диссертационной работы показывают, что однократное воздействие каината или триметиллолова на мозг вызывает нейродегенеративные процессы в гиппокампе, которые воспроизводят признаки нейродегенеративных заболеваний у человека, такие как прогрессивная гибель нейронов и когнитивные дефекты. При этом изменяется экспрессия генов отдельных подтипов метаботропных рецепторов глутамата (мГлу) в гиппокампе по мере развития нейродегенерации/нейропротекции из Группы I - мГлу5; Группы II - мГлу2 и мГлу3; Группы III - мГлу4. В работе делается вывод, что при нейродегенерации гиппокампа, вызванной как хлоридом триметиллолова (ТМТ), так и каиновой кислотой общим является изменение экспрессии генов пре- и постсинаптических мГлу рецепторов, которое направлено на ограничение действия глутамата. Важными являются результаты, показывающие реципрокную зависимость между активацией рецепторов и уровнем экспрессии их генов. Такая зависимость продемонстрирована для мГлу4 рецепторов, фармакологическая активация которых привела к снижению уровня их мРНК. Перечисленные выше результаты позволили автору проследить динамику вовлечения различных подтипов мГлу в нейродегенеративный процесс и предложить стратегию для нейропротекции с помощью фармакологического применения лигандов к мГлу рецепторам. Выдвинутая автором гипотеза нашла подтверждение. Была показана эффективность совместного применения лигандов к пре- и постсинаптическим мГлу рецепторам на каинатной модели нейродегенерации в отношении гибели нейронов. Фармакологическая активация мГлу2 рецепторов вместе с ингибированием мГлу5 рецепторов позволила уменьшить гибель нейронов в гиппокампе, что сопровождалось приближением экспрессии генов этих рецепторов к контрольному уровню.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым ВАК России к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности «Физиология».

**Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации.** Все представленные в работе результаты получены при личном участии автора в постановке задач, выборе методов исследований, проведении экспериментов, анализе полученных результатов и подготовке публикаций. В частности, поведенческие тесты для характеристики когнитивных функций животных после действия нейротоксинов (каината и триметиллолова), результаты ОТ-ПЦР в реальном времени были получены автором самостоятельно. Результаты оценки морфологических особенностей повреждения гиппокампа на каинатной модели нейродегенерации были получены при непосредственном участии автора совместно с д.б.н., в.н.с. лаборатории микроспектрального анализа клетки и клеточных систем ИБК РАН

ФИЦ ПНЦБИ РАН Гордон Р.Я., а на ТМТ-модели нейродегенерации совместно с к.б.н., с.н.с. лаборатории экспериментальной нейробиологии ИТЭБ РАН Михеевой И.Б.

**Степень достоверности проведённых исследований.** Научные положения и выводы диссертации Першиной Е.В. обоснованы, достоверны и логически вытекают из полученных данных.

**Научная новизна.** На основании полученных в диссертации выявлено вовлечение мГлу4, мГлу3 и мГлу5 рецепторов в адаптивные механизмы, развивающиеся при нейродегенеративных явлениях, вызванных ТМТ. Показано, что через 3 недели после инъекции ТМТ в гиппокампе животных повышается уровень мРНК для мГлу3, мГлу4 рецепторов, а также маркера воспаления - COX2, что дало основание выявить конкретные сроки периода нейровоспаления в механизмах действия ТМТ. Впервые проведено исследование экспрессии генов *GRM4* в гиппокампе и префронтальной коре после фармакологической активации мГлу4 рецепторов. Была показана реципрокная зависимость между активностью мГлу4 рецепторов и экспрессией их генов, что дает основание для определения направленности фармакологической коррекции патологических изменений при повреждающих воздействиях. Для снижения гибели гиппокампальных нейронов, вызванной каинатом, впервые было применено совместное воздействие на пре- и постсинаптические мГлу рецепторы. Такая фармакологическая модуляция активности мГлу рецепторов позволила остановить/замедлить гибель клеток в гиппокампе. Впервые показано, что при этом возвращается к норме уровень экспрессии генов мГлу рецепторов, измененных под влиянием каината.

**Научно-практическая ценность.** Результаты, полученные в работе, позволили выявить среди мГлу рецепторов те подтипы, которые в наибольшей степени вовлечены в механизмы нейродегенерации. Это позволяет выбрать мГлу-мишени для нейропротекции и предложить фармакологический способ модуляции их активности на разных этапах нейродегенерации. В условиях ТМТ-интоксикации, на ранних стадиях нейродегенерации необходимо применять лиганды, активирующие мГлу4 рецепторы, затем активировать мГлу3, а на поздних этапах целесообразно ингибировать мГлу5 рецепторы. Получены результаты, уточняющие способ применения фармакологических агентов, когда известны сдвиги в уровне экспрессии генов в мозге. Выявлена реципрокная зависимость между активностью рецептора и уровнем его мРНК. Такой характер взаимоотношения справедлив, например, для мГлу4 рецепторов: их активация привела к понижению уровня мРНК. Теоретическую значимость имеет выдвинутое предположение, что для поддержания компенсаторно-восстановительных механизмов, индуцированных повреждающим фактором, фармакологическое воздействие должно быть направлено на нормализацию уровня экспрессии соответствующего гена.

Терапевтическую ценность может иметь предложенное и проверенное на каинатной модели совместное применение лигандов к пре- и постсинаптическим рецепторам. Такой подход к снижению гибели нейронов может иметь преимущества в отношении доз и длительности применения фармакологических агентов.

**Ценность научных работ соискателя, соответствие содержания диссертации специальности, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.** Содержание диссертационной работы и опубликованные по ней материалы: 8 статей в рецензируемых журналах, из них 6 в журналах из перечня ВАК РФ, 14 тезисов российских и международных конференций, соответствуют специальности 03.03.01 – «Физиология». Результаты диссертационного исследования полностью изложены в опубликованных работах.

Диссертация Першиной Екатерины Викторовны «Роль метаботропных рецепторов глутамата в нейродегенеративных повреждениях гиппокампа, вызванных нейротоксинами» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология». Заключение принято на заседании секции «Нейронауки» Ученого совета ИТЭБ РАН. Присутствовало на заседании 26 человек. Результаты голосования: «за» – 26, «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 7 от 01 августа 2019 года.

Председатель секции,  
д.б.н.

В.Ф. Кичигина



ПИСЬМО: Кичигина ВФ  
ГРУЗДЕВА