

УТВЕРЖДАЮ

Проректор – начальник
Управления научной политики
и организации научных исследований

МГУ имени М.В.Ломоносова,

А.А.Федягин

2019 года



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Першиной Екатерины Викторовны «РОЛЬ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГЛУТАМАТА В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ГИППОКАМПА, ВЫЗВАННЫХ НЕЙРОТОКСИНАМИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Актуальность исследования. Работа Е.В. Першиной посвящена изучению одной из фундаментальных медико-биологических проблем – изучению механизмов нейродегенерации, а конкретно – роли метаботропных рецепторов глутамата в экспериментальных моделях нейродегенеративной гибели нейронов гиппокампа на животных. В связи с увеличением числа нейродегенеративных заболеваний во всем мире и отсутствием эффективных терапевтических средств, вопросы исследования фундаментальных механизмов гибели нейронов, остаются особенно актуальными.

Несмотря на многообразие причин, способных повреждать нейроны и приводить к их гибели, выявлены общие нейродегенеративные процессы, такие как окислительный стресс, глутаматная эксайтотоксичность, нейровоспаление, аутофагия.

Эксайтотоксичность является общим компонентом не только для многих нейродегенеративных заболеваний, она наблюдается также при ишемическом повреждении мозга и механических травмах. В результате исследований механизмов эксайтотоксичности было предложено несколько направлений для разработки протекторов, однако они оказались недостаточно эффективными. Одна из причин такой ситуации, по-видимому, заключается в чрезвычайно важной роли глутамата и его

рецепторов во всех функциях мозга, так как почти все клетки мозга имеют рецепторы к глутамату. Поэтому любое вмешательство в глутаматный обмен неизбежно одновременно влияет на многие другие функции. В своей работе диссертант исходит из предположения, что воздействие именно на метаботропные рецепторы (мГлу) даст возможность эффективно регулировать функции глутамата, в том числе и в условиях эксайтотоксичности.

Научная новизна и достоверность исследования. Научная значимость и новизна результатов, полученных в работе Е.В. Першиной, не вызывают сомнений. Автор вносит существенный вклад в развитие представлений о динамике экспрессии генов мГлу рецепторов при развитии нейродегенерации в гиппокампе в ответ на действие нейротоксина. Диссертант впервые показал вовлечение всех трех групп мГлу рецепторов в адаптивные механизмы, происходящие в гиппокампе после индукции нейродегенерации каинатом или хлоридом триметилолова (TMT). Результаты выявили участие рецепторов мГлу4, мГлу3 и мГлу5 в адаптивные механизмы, развивающиеся при нейродегенеративных явлениях, вызванных TMT. По предложению автора эти рецепторы могут быть перспективными мишениями для разработки нейропротективных средств. В диссертации показано также, что через 3 недели после инъекции TMT в гиппокампе животных повышается уровень мРНК для мГлу3, мГлу4 рецепторов и для маркера воспаления циклооксигеназы-2, что указывает на конкретные сроки процесса нейровоспаления при действии TMT. В работе впервые было проведено исследование экспрессии генов мГлу4 в гиппокампе и префронтальной коре после фармакологической активации рецептора мГлу4. Показана реципрокная зависимость между активностью мГлу4 рецепторов и экспрессией их генов, что дает основание для определения направленности действия на рецепторы для коррекции патологических изменений при повреждающих воздействиях.

Кроме того, для снижения гибели нейронов, вызванной каинатом, в диссертантом Е.В. Першиной впервые было применено совместное воздействие на пре- и постсинаптические мГлу рецепторы. Такая фармакологическая модуляция активности мГлу рецепторов позволила остановить/замедлить гибель клеток в гиппокампе, и при этом уровень экспрессии генов мГлуР, измененных под влиянием каината, приблизился к значениям контрольных животных.

Анализ содержания диссертации. Диссертационная работа построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, описание полученных результатов, их обсуждение, выводы и список литературы. Работа изложена на 119 страницах, содержит 38 рисунков и 4 таблицы. Список литературы

включает 249 ссылок (из них 8 отечественных). Во введении автором сформулированы актуальность и научная новизна, цель и задачи исследования, научная значимость полученных результатов, представлены положения, выносимые на защиту, а также приведены сведения об апробации работы.

Исследования, проведенные в работе, направлены на изучение механизмов нейродегенерации в гиппокампе крыс. Эксперименты проведены на двух моделях, в которых повреждение нейронов достигается введением животным кайната или хлорида триметилолова. Кайнат, являясь агонистом кайнатных рецепторов глутамата, вызывает гибель нейронов, в основном как результат эксайтотоксического действия глутамата, а механизмы повреждающего действия хлорида триметилолова на мозг включают митохондриальные дисфункции, нейровоспаление, аутофагию. В главе «Обзор литературы» достаточно полно описаны эти модели нейродегенерации, приведены сведения об известных клеточных механизмах гибели нейронов, способах, препятствующих нейродегенерации. Преимущественное внимание уделено глутамату и его рецепторам, их роли в механизмах повреждения и гибели нейронов. Особый интерес вызывает параграф «1.5. Пути и способы уменьшения гибели нейронов в условиях нейротоксического повреждения мозга», где с достаточной полнотой рассмотрены возможности и варианты нейропротекции. Приведены экспериментальные работы, где показаны перспективы применения лигандов к мГлу рецепторам в качестве терапевтических средств. В целом, обзор литературы написан грамотным научным языком, отражает современное состояние исследований клеточных механизмов нейродегенерации и нейропротекции.

Для выполнения поставленных задач Е.В. Першина использовала различные методы: гистохимические, молекулярно-биологические и поведенческие. Их описание в главе «Материалы и методы» представлено с достаточной полнотой. В работе использованы адекватные современные методы, соответствующие целям и задачам исследования. Главной отличительной чертой данной работы является разнообразие применяемых методик, позволяющее полнее оценить возможности экспериментальных моделей нейродегенеративных повреждений гиппокампа.

В Главе 3 представлены результаты собственных исследований. Автору удалось заметить повреждающее действие кайната на морфологию гиппокампа крыс и одновременно сопровождающее нарушение процессов обучения животных. Фармакологическое воздействие, направленное на пре- и постсинаптические мГлу рецепторы, оказало именно нейропротекторное действие, о чем свидетельствуют

представленные в диссертации морфологические исследования гиппокампа, а также результаты экспрессии генов мГлу рецепторов.

Далее представлены результаты, полученные на другой экспериментальной модели, в которой нейродегенеративное повреждение гиппокампа было вызвано действием нейротоксиканта - хлорида триметилолова. Патологические изменения в гиппокампе определяли гистохимическими методами, и при этом отметили поведенческие нарушения, которые развиваются у крыс на протяжении нескольких недель после воздействия. Подробное исследование экспрессии генов мГлу рецепторов на разных сроках после инъекции хлорида триметилолова дало возможность диссертанту выяснить, что роль отдельных подгрупп этих рецепторов в повреждающих эффектах нейротоксиканта различается. Оказалось, что уровни экспрессии мГлу2 и мГлу7 не претерпели значительных изменений, из чего было сделано заключение об их несущественной роли. Что касается мГлу3, уровень экспрессии этого подтипа был повышен даже через 3 недели после инъекции ТМТ в период нейровоспаления, но снизился через 6 недель. Уровень экспрессии мГлу4 рецепторов был повышен во всех исследуемых временных точках, что, возможно, указывает на адаптивное увеличение числа этих пресинаптических рецепторов. Если этот подтип рецепторов рассматривать в качестве мишени для терапевтического вмешательства, диссертант предлагает применять их активировать с помощью агонистов.

В Главе 4 представлено обсуждение результатов, полученных с применением обеих экспериментальных моделей. Диссертантом были выявлены сходства и различия в гиппокампальной нейродегенерации, вызываемой каинатом и хлоридом триметилолова. Так, например, в обоих случаях показана преимущественная гибель клеток в поле CA3 гиппокампа по типу некроза. Однако в отличие от ТМТ-модели, при действии каината происходит отсроченная гибель клеток в поле CA1. Токсины изначально действуют на разные мишени и поэтому их первичные механизмы разные. В этой главе также сделан анализ участия отдельных подгрупп мГлу рецепторов в механизмах нейродегенерации, а также подчеркивается, что уровень транскрипции генов в мозге вовлечен в механизмы реорганизации нейронных сетей, которая возникает в результате повреждения гиппокампа. Подчеркнуто, что в последние годы создано большое число селективных лигандов к мГлу рецепторам, с которыми активно проводятся экспериментальные работы при моделировании на животных различных заболеваний, в том числе и нейродегенеративных. Некоторые из фармакологических модуляторов мГлу рецепторов (например, в настоящее время проходят доклинические и клинические испытания.

Замечания. Несмотря на то, что работа Е.В. Першиной выполнена на высоком экспериментальном уровне, с применением самых современных методов, есть и несколько технических замечаний:

- Морфологические исследования гиппокампа после воздействия кайната и ТМТ сделаны с применением различающихся гистохимических методик, что затрудняет сравнение степени патологических изменений в гиппокампе после действия двух нейротоксинов.
- Из всех 8 подтипов мГлу рецепторов в работе представлены данные о мГлу2-5, 7. Для полноты картины полученных результатов можно было предложить расширить диапазон количества рассматриваемых рецепторов мГлу (например, мГлу1).

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах. По теме диссертации автором опубликовано 8 статей в отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, из них 6 рекомендованных ВАК, и 14 тезисов докладов. Материалы диссертации докладывались на всероссийских и международных конференциях.

Рекомендации по использованию результатов диссертации.

Результаты, полученные в работе, позволили выявить среди мГлуР именно те подтипы, которые в наибольшей степени вовлечены в механизмы нейродегенерации, и вероятные способы их модификации. Это позволит выбрать мГлу-мишени для нейропротекции и предложить фармакологический способ модуляции их активности на разных этапах нейродегенерации.

Полученные диссидентом данные могут быть использованы в последующих исследованиях и выборе действующих фармакологических агентов для терапии нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, результаты, полученные в диссертации Е.В. Першиной, можно рекомендовать для использования в лекционных курсах высших образовательных учреждений. Содержание диссертации соответствует указанной специальности – 03.03.01 – физиология. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию и выводам диссертации.

Заключение. По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных данных представленная работа «РОЛЬ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГЛУТАМАТА В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ГИППОКАМПА, ВЫЗВАННЫХ НЕЙРОТОКСИНАМИ» соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на

соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор – Першина Екатерина Викторовна заслуживает присвоения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв на диссертационную работу обсужден и утвержден на заседании кафедры высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова 6 ноября 2019 года, протокол №7 .

Ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности
Биологического факультета МГУ,
кандидат биологических наук

И.Б. Федотова

Заведующий кафедрой высшей нервной деятельности
Биологического факультета МГУ,
доктор биологических наук, профессор

А.В. Латанов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет. Адрес: 119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 12. Телефон: 8-495-939-28-37 Адрес электронной почты: info@neurobiology.ru

Сведения о ведущей организации
по диссертации Першиной Екатерины Викторовны «Роль метаботропных
рецепторов глутамата в нейродегенеративных повреждениях гиппокампа, вызванных
нейротоксинами», представленной к соисканию ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.03.01 – Физиология

<i>Полное наименование организации в соответствии с уставом</i>	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
<i>Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом</i>	Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, МГУ имени М.В. Ломоносова, или МГУ
<i>Место нахождения</i>	г. Москва
<i>Почтовый индекс, адрес организации</i>	119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1
<i>Адрес официального сайта в сети Интернет</i>	www.msu.ru
<i>Телефон</i>	(495)939-27-29
<i>Адрес электронной почты</i>	info@rector.msu.ru
<i>Список публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации соискателя в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)</i>	<p>1). Федотова И.Б., Перепелкина О.В., Николаев Г.М., Сурина Н.М., Полетаева И.И. Влияние этосуксимида на аудиогенную эпилепсию крыс линии Крушинского—Молодкиной. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2019, том 167, № 4, с. 447-447.</p> <p>Перевод: Fedotova I.B., Perepelkina O.V., Nikolaev G.M., Surina N.M., Poletaeva I.I. Effect of Ethosuximide on Audiogenic Epilepsy in Krushinsky—Molodkina Rats Bulletin of Experimental Biology and Medicine, V. 167, № 4, P. 464-466.</p> <p>2). Латанов А.В. Высшая нервная деятельность: классика современной нейробиологии. Журнал Высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, 2018, том 68, №4, с. 397-403.</p> <p>3). Полетаева И.И., Сурина Н.М., Федотова И.Б. Влияние вдыхания паров толуола на интенсивность аудиогенного судорожного припадка у крыс линии Крушинского-</p>

Молодкиной. Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова, издательство Наука (СПб.), 2019 том 105, № 6, с. 1-7.

4). Федотова И.Б., Николаев Г.М., Перепелкина О.В., Белослудцева Н.В., Миронова Г.Д., Полетаева И.И. Влияние уридина на развитие аудиогенных тонических судорог у крыс линии Крушинского-Молодкиной. Доклады Академии наук, издательство Наука (М.), 2018 том 481, № 1, с. 125-127.

5). Федотова И.Б., Сурина Н.М., Николаев Г.М., Костына З.А., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Исследование генеза судорожных состояний на модели аудиогенной эпилепсии(линия крыс Крушинского-Молодкиной. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, 2018, том 68, № 4, с. 448-458.

6). Venediktova N.I., Gorbacheva O.S., Belosludtseva N.V., Fedotova I.B., Surina N.M., Poletaeva I.I., Kolomytkin O.V., Mironova G.D. Energetic, oxidative and ionic exchange in rat brain and liver mitochondria at experimental audiogenic epilepsy (Krushinsky-Molodkina model). Journal of Bioenergetics and Biomembranes, Springer/Plenum Publishers (New York, USA), 2017, V. 49, № 2, 149-158.

7). Sarkisova Karine Yu, Fedotova Irina B., Surina Natalia M., Nikolaev Georgy M., Perepelkina Olga V., Kostina Zoya A., Poletaeva Inga I. Genetic background contributes to the co-morbidity of anxiety and depression with audiogenic seizure propensity and responses to fluoxetine treatment. Epilepsy and Behavior, 2017, V. 68, 95-102.

8). Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perepelkina O.V., Fedotova I.B. 2017 The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65 years Review Article , Epilepsy and Behavior, 2017, V. 71, № Part B,

130-141.

9). Федотова И.Б., Николаев Г.М., Костына З.А., Полетаева И.И. Отдаленные эффекты краткой гипертермии в неонатальный период у крыс линии Крушинского–Молодкиной, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. Доклады Академии наук , издательство Наука (М.), 2017 том 472, № 1, с. 1-4.

10). Полетаева И.И., Костына З.А., Сурина Н.М., Федотова И.Б., Зорина З.А. Генетическая линия крыс Крушинского – Молодкиной как уникальная экспериментальная модель судорожных состояний. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2017 том 21, № 4, с. 427-434.

11). Саркисова К.Ю., Федотова И.Б., Сурина Н.М., Николаев Г.М., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Влияние хронического введения флуоксетина на аудиогенную эпилепсию, тревожность и предрасположенность к депрессии у крыс разных генотипов. Доклады Академии наук, 2016 том 467, № 2, с. 238-241.

12). Fedotova Irina B., Surina Natalia M., Nikolaev Georgy M., Poletaeva Inga I.
Subthreshold Corazol Doses Induced Generalized Seizures in Audigenic Seizure-Prone Rats
International Journal of Neurology and Brain Disorders, 2016 том 3, № 3, с. 1-6.

13). Poletaeva II, Surina NM, Ashapkin VV,
Fedotova IB, Merzalov IB, Perepelkina OV,
Pavlova GV. Maternal methyl-enriched diet in rat reduced the audiogenic seizure proneness in progeny. Pharmacology, Biochemistry & Behavior, 2014 том 127, 21-26.

14). Перепелкина О.В., Полетаева И.И., Тарасова А.Ю. Моделирование заболеваний мозга человека в экспериментах на грызунах (краткий обзор). Современная зарубежная

психология, 2016, том 5, № 4, с. 13-23.

15). Tarasova AY, Perepelkina OV, Lil'p IG, Revishchin AV, Pavlova GV, Poletaeva *Influence of "Enriched Environment" on Behavior and Neurogenesis in Mice Selected by Cognitive Trait. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, Kluwer Academic Publishers (Netherlands), 2018, том 64, № 5, 583-586.*

«Верно»

Проректор –
начальник Управления научной политики
и организации научных исследований

МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А.Федягин

«11» 11 2019 года.

