

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета д.б.н. Антонова С.М. на диссертацию Лопачева Александра Васильевича на тему:

**«Исследование механизмов нейротоксического действия кардиотонических стероидов убаина, дигоксина и буфалина на первичную культуру нейронов крысы»,**  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 — биохимия

*Актуальность темы диссертационной работы.* Представленная диссертационная работа Лопачева А.В. посвящена изучению возможных нейротоксических эффектов эндогенных кардиотонических стероидов (КТС), а именно убаина, дигоксина и буфалина на нейроны неокортекса и мозжечка мозга крыс в первичной культуре ткани. Предполагается, что эндогенный убаин, а возможно и другие КТС, вырабатываются в мозге и надпочечниках млекопитающих, причем концентрация КТС в межклеточном пространстве может возрастать в условиях развития патологических процессов в ЦНС. При этом изучение токсических эффектов экзогенных КТС проводилось только для убаина, тогда как относительно эффектов других КТС данных в литературе не обнаружено. В этой связи представляет большой интерес исследование нейротоксического действия различных КТС. Этим определяется значение диссертационной работы соискателя. Является актуальным привести изучение концентрационного профиля нейротоксичности КТС, сопоставление их способности ингибировать различные изоформы Na/K-АТФазы и анализ метаботропных эффектов, связанных с активацией внутриклеточных сигнальных путей в результате взаимодействия Na/K-АТФазы с различными КТС.

*Научная новизна работы.* В работе впервые проведено сравнительное изучение нейротоксических эффектов убаина, дигоксина и буфалина на нейроны неокортекса и мозжечка крыс в первичной культуре ткани. Изучены концентрационные и временные профили эффектов КТС на активацию MAP-киназ (ERK1/2, p38, JNK), а также связь активации этих киназ с нейротоксичностью. В частности, автором было показано, что гиперактивация p38 и подавление JNK при ингибировании  $\alpha_2+\alpha_3$  изоформ Na/K-АТФазы связаны с увеличением концентрации свободного внутриклеточного кальция, в то время как активация ERK1/2 не связана с кальциевым сигналом.

*Теоретическая значимость* работы состоит в сопоставлении концентраций КТС, вызывающих ингибирование Na/K-АТФазы, концентраций, вызывающих

нейротоксический эффект, и концентраций, вызывающих активацию MAP-киназ сигнальных каскадов. Это позволило получить дополнительные аргументы в обоснование регуляторного значения Na/K-АТФазы и расширить существующие представления относительно сигнальной функции Na/K-АТФазы в нейронах.

Рукопись диссертации имеет классическую структуру и включает все обязательные разделы. Обзор литературы содержит необходимые для понимания сути исследования данные о структуре, изоформах, каталитическом цикле и регуляции функций Na/K-АТФазы. Подробно изложены сведения о разнообразии КТС, механизме их действия на Na/K-АТФазу, физиологических эффектах связывания КТС с Na/K-АТФазой, включая влияние на везикулярный транспорт, адгезию, пролиферацию клеток, активацию Src и MAP-киназ, а также на экспрессию генов в клетках млекопитающих. При этом список литературы включает 340 источников.

Методы исследования адекватны поставленным задачам и включают количественное измерение активности изоформ Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы во фракции микросом нейронов коры и мозжечка; применение МТТ-теста для оценки выживаемости нейронов в первичной культуре при действии КТС; изучение активации сигнальных путей MAP-киназ методом Вестерн блот.

Полученные в исследовании данные широко представлены в 5 статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы индексирования Web of Science и Scopus и прошли детальную международную научную экспертизу. Результаты, полученные диссертантом, представляют интерес для широкой аудитории научных специалистов, включая биохимиков, нейрохимиков, фармакологов и нейрофизиологов. Работа оформлена в соответствии с правилами и хорошо иллюстрирована. Рукопись диссертационного исследования написана хорошим научным языком.

Хотя достоверность результатов, научная новизна, выводы и положения, выносимые на защиту, сформулированы автором четко и не вызывают сомнений, при чтении диссертации возникают вопросы и небольшие замечания. В частности, несмотря на то, что в первом положении, выносимом на защиту, речь идет о минимальных токсических концентрациях при 24 ч действии, в последнем предложении относительно 12 ч действия значение концентрации убаина не конкретизировано. Кроме того, хотелось бы задать вопрос о том, возможно ли в организме локальное накопление КТС, достаточное для возникновения нейротоксического эффекта?

Диссертация Лопачева Александра Васильевича на тему: «Исследование механизмов нейротоксического действия кардиотонических стероидов убаина, дигоксина и буфалина на первичную культуру нейронов крысы» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Лопачев Александр Васильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 — биохимия. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета  
д.б.н, заведующий лабораторией  
сравнительной нейрофизиологии  
ИЭФБ РАН



Антонов С.М.

06.12.2021