

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию Большакова Артема Евгеньевича на тему «Механизмы нейропротекторного действия уабаина при эксайтотоксическом стрессе в нейронах неокортекса крыс», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

Диссертация Большакова Артема Евгеньевича посвящена актуальной проблеме – изучению механизмов гибели нейронов в результате действия избыточных количеств возбуждающих аминокислотных синаптических передатчиков. Так называемая эксайтотоксичность является причиной нейродегенеративных процессов при самых разнообразных заболеваниях и травмах нервной системы и изучение механизмов эксайтотоксичности, а также способов вмешательства в эти процессы представляет огромный теоретический и практический интерес. В работе изучено действие одного из возможных факторов регуляции нейродегенерации – сердечного гликозида уабаина в широком диапазоне концентраций в нормальных условиях и при эксайтотоксическом стрессе, вызванном агонистами ионотропных рецепторов глутамата в первичной культуре нейронов коры мозга крыс.

Особенностью работы является комплексное применение самых современных методов исследования. Помимо приготовления и использования первичной культуры нервной ткани, автор применил флуорометрический и радиометрический методы для мониторинга свободного внутриклеточного кальция, использовал витальный экспресс-тест по определению нейродегенерации методом конфокальной микроскопии, иммуно-цитохимический метод для идентификации антиапоптотического белка Bcl-2. В работе также изучалась электрическая активность нейронов методом «patch-clamp» в конфигурации «whole-cell». Это позволило

PK №33-06-962 от 29.09.2022

регистрировать спонтанные возбуждающие постсинаптические токи при воздействии различных фармакологических средств, а также измерить вольт-амперные характеристики каналов NMDAR и AMPAR/KAR.

Такой комплексный анализ воздействия сердечного гликозида убаина на кортикальные нейроны был проведен впервые. Впервые показано, что убаин в определенных концентрациях способен оказывать нейропротекторный, а не токсичный эффект, обеспечивая защиту нейронов от эксайтотоксического стресса. Определен диапазон нейропротекторных (от 0,01 нМ до 1 нМ) и нейротоксических (> 10 нМ) концентраций убаина. Впервые обнаружена способность убаина влиять на концентрацию внутриклеточного свободного Ca^{2+} кортикальных нейронов при активации рецепторов глутамата NMDA и KA типов. Установлено, что упомянутые эффекты сверхмалых концентраций убаина, обусловлены усилением выведения внутриклеточного Ca^{2+} наружу Na^{+}/Ca^{2+} -обменником плазматической мембраны и при его блокаде полностью исчезают.

Работа имеет большое теоретическое и практическое значение. Теоретическое значение работы состоит в существенном уточнении представлений о механизмах действия сердечных гликозидов на нервную ткань, полученные результаты имеют большое значение для понимания роли сигнальной функции Na^{+}/K^{+} -АТФазы в нейронах.

Практическая значимость представленной работы связана с открытием нового направления для поиска факторов, способных существенно ослабить нейродегенеративные процессы в центральной нервной системе при различных травмах и многочисленных заболеваниях, сопровождающихся эксайтотоксическим стрессом.

Вопросы и замечания.

Замечание по литобзору. В конце литобзора хотелось бы видеть постановку задачи исследования. Это естественно, поскольку постановка

задачи исследования логически вытекает из анализа современного состояния проблемы.

Замечание по разделу «3.1. Исследование соотношения нейронов, находящихся в различных состояниях, при действии агонистов рецепторов глутамата».

Было бы полезно проиллюстрировать соотношение живых нейронов, некротизированных и в состоянии апоптоза после воздействия каината и NMDA такой же гистограммой, как для контроля на рис.12. Статистические отличия между группами (контроль, воздействие каината, воздействие NMDA) практически не приведены, есть только не очень конкретное указание на то, что воздействие агонистов «достоверно снижает число жизнеспособных клеток и способствует значительному повышению числа нейронов, в которых начинаются апоптотические процессы». Нужна конкретика – по каким группам (некроз, апоптоз, живые) наблюдалось достоверное повышение(снижение) и есть ли отличия от контроля и между действием КА и NMDA.

Вопросы для дискуссии.

Почему наличие в культуре нервной ткани некоторой фоновой деполяризации в результате спонтанной активации NMDA-рецепторов интерпретируется как доказательство того, что секреция глутамата нейронами происходит не только по механизму квантового высвобождения, но и по механизму неквантового высвобождения? Наличие в культуре глутаматергических нейронов, спонтанная активность нейронов, незрелость механизмов обратного захвата — все это должно приводить к созданию определенной фоновой концентрации глутамата в межклеточном пространстве культуры клеток. Этих причин может быть вполне достаточно для объяснения появления добавочных количеств глутамата во внеклеточном

пространстве после стимуляции нейронов агонистами глутамата, почему это нужно объяснять реверсией нейронного и глиального захвата глутамата?

Замечания по стилю и орфографии.

К сожалению в представленной работе попадаются недостаточно тщательно выверенные страницы с досадными опечатками («экспресию», «нпрпавления», «активирующее». «корректенным», « в приприсутствии» и другие).

«Антитела не только активируют белок, но также генерирует множественные события по защите кардиомиоцитов, а также индуцирует положительный ионотропный эффект в них(?)». стр.51

Обсуждаемые в тексте на стр.80 частоты сВПСТ в подписи к рис.27 почему-то становятся частотами мВПСТ.

В списке используемых сокращений отсутствует ряд аббревиатур, например «окраска ЭБ» (стр. 22), ЭПР, РКС, VDCC, ASIC, TRP, NCX, ОКД, ВАХ, РМСА, КТС , встречаются двойные обозначения (АТР и АТФ).

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов

Полученные автором результаты достоверны, статистическая обработка и анализ данных проведены корректно, выводы и заключения обоснованы.

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ: 4 статьи в реферируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus, а также 10 публикаций в материалах российских и международных конференций. Диссертационная работа была доложена и апробирована на 10-ти международных и российских научных конференциях.

Заключение

Диссертация Большакова Артема Евгеньевича на тему «Механизмы нейропротекторного действия убаина при эксайтотоксическом стрессе в нейронах неокортекса крыс» соответствует основным требованиям,

установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Большаков Артем Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Председатель диссертационного совета

д. биол. наук, профессор,

заведующий кафедрой высшей нервной деятельности

и психофизиологии СПбГУ



Александров А.А.

Дата

Подпись *А.А. Александрова*
ЗАВЕРЯЮ
Сред. ОК // *Э.А. Прохорова*
19.09.2022г.