

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Большакова Артема Евгеньевича на тему: «Механизмы нейропротекторного действия убаина при эксайтотоксическом стрессе в нейронах коры крысы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 03.03.01 физиология

1. Актуальность тематики диссертации:

Анализ принципов организации и функционирования нервной системы традиционно являлся и продолжает оставаться является ключевым направлением нейрофизиологии. Список ее многочисленных достижений, спорных вопросов и нерешенных проблем, которые ранее носили преимущественно фундаментальный характер, все в большей степени расширяется прикладными задачами, связанными с нейродегенеративными болезнями, поразившими современную цивилизацию. В их сонме ключевой является проблема купирования гибели нейронов, инициируемой различными патологическими процессами. Вероятно, наиболее разработанной областью является так называемое эксайтотоксическое действие глутамата, ассоциирующееся с накоплением этого нейротрансмиттера в межклеточном пространстве, наблюдаемое, например, при ишемии, инсульте и ряде других патологиях. Поскольку ионотропные рецепторы являются ключевыми медиаторами эксайтотоксичности глутамата, долгое время ставка делалась на блокаторы этих рецепторов. Оказалось, однако, на этом пути трудно достижимы требуемая специфичность и локальность действия блокаторов по отношению к патологической области нейрональной ткани. Это потребовало разработки других подходов, в числе которых находится поиск соединений, которые способны модулировать гибель нейронов, инициируемую глутаматом, на основе других механизмов.

Диссертационная работа А.Е. Большакова выполнена в рамках этого направления и посвящена изучению действия гликозида убаина как возможного нейропротектора при эксайтотоксическом стрессе, вызванном в нейронах коры мозга агонистами ионотропных рецепторов глутамата. В целом, целесообразность и актуальность предпринятого исследования сомнений не вызывает.

2. Научная новизна выносимых на защиту результатов:

С использованием клеточной модели - первичной культуре нейронов коры мозга крысы – исследованы долговременные эффекты убаина на выживаемость кортикальных нейронов. Получен ряд новых и принципиальных результатов:

2.1. Впервые продемонстрировано, что при субнанолярных концентрациях убаин способен обеспечивать полную (в рамках длительности эксперимента) выживаемость нейронов в условиях эксайтотоксического стресса, вызванного стимуляцией NMDA и канинатных рецепторов глутамата.

2.2. При анализе возможных механизмов нейропротекторного действия гликозида показано, что:

*Одной из вероятных мишеней является Na^+/Ca^{2+} -обменник плазмалеммы, убаин-зависимая стимуляция которого предотвращает паталогическую долговременную перегрузку нейронов ионами Ca^{2+} .

*В присутствии убаина усиливается активность антиапоптотических каскадов, что, в частности, проявляется в стимуляции экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2.

3. **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы:**

Теоретическая значимость исследования состоит в демонстрации существования внутриклеточных механизмов, основанных на сигнальной функции Na^+/K^+ -АТФазы, с привлечением которых можно купировать эксайтоксические эффекты глутамата на нейроны мозга.

Практическое значение работы состоит в детальном исследовании выживаемости кортикальных нейронов в условиях эксайтоксического стресса в контроле и в присутствии оубаина. Это позволило очертить области концентраций гликозида, в которых доминируют цитотоксические, либо нейропротекторные эффекты, что может быть использовано в исследовательских и терапевтических целях.

4. **Представленность основных результатов диссертации в научных изданиях:**

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ. В их числе имеется 4 статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных WOS и SCOPUS, включая 1 статью в международном журнале *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, и 8 тезисов докладов. Основные результаты были представлены на 10 научных конференциях.

5. **Вопросы и замечания**

Хотя в целом работа А.Е. Большакова достаточно ясно изложена и с достаточным уровнем детализации, ряд ее положений вызывает вопросы и замечания.

5.1. Литературный обзор.

В силу огромного количества имеющейся литературы никакой обзор не может претендовать на абсолютную полноту, но все-же должен отражать, и отражать достаточно точно, ключевые факты и современные представления в области исследования. Автор излагает таковые преимущественно с привлечением ссылок 20-летней давности. Ключевыми для данной работы являются представления о механизмах клеточной гибели. Автор в основном фокусируется на апоптозе и некрозе. Между тем, в обзоре 2018 г. (Fricker et al. *Physiol Rev* 98: 813–880, 2018) выделяется 11 типов гибели нейрональных клеток. В целом, данный раздел Литобзора смотрится достаточно поверхностным и не вполне современным. То же можно сказать о параграфе, в котором описывается ключевое для серии опытов диссертанта семейство регуляторов апоптоза - белков Bcl-2.

Раздел, посвященный глутаматергическому синапсу, содержит множество не имеющих непосредственного отношения к диссертационной работе фактов, в то время как многие важные факты об ионотропных рецепторах глутамата не изложены в нужных деталях, например, феноменология и механизм Mg^{2+} блока, или связь Ca^{2+} проницаемости и субъединичного состава. Было бы полезно осветить неионотропную, как в случае Na^+/K^+ -АТФазы, сигнализацию NMDA рецепторов, которая может играть определенную роль в эксайтотоксичности глутамата.

Имеются терминологические вольности. Например:

Стр.30 «*Временные потенциал-зависимые каналы (TRP)*». Семейство каналов для катионов, которые не селективны для ионов Mg^{2+} , Na^{+} и Ca^{2+} ».

Это словосочетание вызывает оторопь. Во-первых, это неправильный перевод термина Transient receptor potential. Последний – это название мутации гена, ассоциирующийся с определенным фенотипом электроретинограммы сетчатки дрозофилы. Его продукт, являющийся катионным каналом, проницаемым для указанных ионов, был назван TRP канал, дав тем самым название семейству гомологов и ортологов, идентифицированных позднее практически у всех животных. Термин TRP не переводится – это бессмысленно.

5.2. Раздел «Неквантовое высвобождение глутамата в нейронах культуры коры головного мозга».

В этом разделе приводятся экспериментальные факты, которые свидетельствуют о том, что в культуре активность NMDA-рецепторов в нестимулируемых нейронах вполне детектируема. На основании этого делается вывод, что имеет место неквантовая секреция глутамата. Представляется, что требуется дополнительная аргументация в пользу того, что в данной клеточной модели неквантовая секреция была основным механизмом появления глутамата в среде культивирования. Каким образом можно исключить возможность того, что глутамат высвобождался гибнущими клетками и/или за счет спонтанного экзоцитоза? Глиальные клетки могли секретировать глицин в достаточной мере, чтобы потенцировать активность NMDA-рецепторов на низком фоне экстраклеточного глутамата неопределенной природы.

6. Заключение.

В своей совокупности работа Большакова А.Е. представляет собой законченное исследование, в котором получены весомые результаты, Представленные материалы в целом позволяют прийти к заключению, что:

Диссертация Большакова Артема Евгеньевича на тему: «Механизмы нейропротекторного действия убаина при эксайтотоксическом стрессе в нейронах коры 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 03.03.01 физиология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружены.

Член диссертационного совета

д.б.н., профессор, зав.лабораторией

Колесников С.С.

Дата: 19 сентября 2022 г.