

О Т З Ы В

**официального оппонента
на диссертационную работу
Иванова Андрея Дмитриевича**

«Исследование протекторных свойств нейротрофинов при угнетении синаптической пластичности в гиппокампе бета-амилоидным пептидом»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
Специальности 03.03.01 – «Физиология»,
и 03.01.03 – «Молекулярная биология»

Актуальность диссертационной работы

Исследование роли нейрональных трофических факторов в пластических процессах в мозге является одной из приоритетных задач современной нейрофизиологии. Несмотря на то, что во всём мире идёт интенсивное изучение этого вопроса, убедительные данные о прямом влиянии фактора роста нервов (NGF) и нейротрофического фактора мозга (BDNF) на синаптическую пластичность в гиппокампе отсутствуют. В то же время гиппокамп вовлечен во многие когнитивные процессы в мозге, такие как обучение и память, а также в ряд патологических процессов, наблюдаемых при депрессии, шизофрении, болезни Альцгеймера, когда нарушается лабильность мозга. Отсюда понятна актуальность проделанной работы.

Основные научные результаты, их новизна

В диссертационной работе изучена роль основных нейротрофинов в регуляции долговременной потенциации (LTP) в синапсах, образуемых волокнами медиального перфорантного пути на нейронах зубчатой фасции гиппокампа, в нормальных условиях и при моделировании нейропатологии Альцгеймеровского типа. Исследование проведено на срезах гиппокампа, выделенного из мозга животных с оверэкспрессией NGF и BDNF, при использовании метода лентивирусной трансдукции, и подвергающихся токсическому действию бета-амилоида (A β) 25-35. Метод вирусной трансдукции является наиболее эффективным для трансформации нервных клеток, при котором может быть достигнуто значительное и долговременное локальное повышение уровня требуемых биологических факторов, при минимальных побочных эффектах. Необходимо отметить, что этот перспективный как для экспериментальной нейробиологии, так и для медицины метод адаптирован и применяется в России благодаря усилиям сотрудников Института, где выполнена диссертационная работа. В экспериментах автору удалось добиться двукратного увеличения концентраций NGF и BDNF в зубчатой фасции, что контролировалось с помощью иммуно-ферментного анализа. Все генно-инженерные конструкции также содержали ген зеленого флуоресцентного белка GFP для визуализации

трансдуцированных клеток. Таким образом, методический уровень проведённой работы чрезвычайно высок, не уступая мировому уровню работ подобного плана.

Автором показано, что в отсутствии патогенного воздействия Аβ увеличение концентраций исследованных нейротрофинов не оказывали заметного влияния на динамику долговременной потенциации в данной системе связи *in vitro*, в то же время часовая инкубация переживающих срезов мозга крыс в 50 нМ растворе Аβ приводит к полной блокаде индукции долговременной потенциации. Основными результатами работы было обнаружение следующих фактов: 1) Увеличение в два раза концентрации фактора роста нервов (NGF), но не нейротрофического фактора мозга (BDNF), защищало нейроны зубчатой фасции от токсичности, вызванной аппликацией бета-амилоида, и 2) Для реализации протекторного эффекта NGF критически важной оказалась активность сигнального каскада фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K).

Обнаруженное отсутствие протекторного влияния возросшего уровня BDNF на синаптическую пластичность является достаточно неожиданным результатом, т.к. известно, что основной функцией этого нейротрофического фактора является модуляция синаптической пластичности. Показано даже, что BDNF сам, без высокочастотной стимуляции, может вызывать долговременную потенциацию, что очень важно для пластических преобразований в мозге. Однако этот экспериментальный результат статистически достоверен и не вызывает сомнения.

Значимость для науки и практики

Результаты данной работы проясняют вопрос о специфичности действия родственных нейротрофинов NGF и BDNF на нейроны гиппокампа, а также позволяют лучше понять клеточные механизмы нарушений работы этой области мозга при патологиях ЦНС. В этой связи очевидна актуальность и значимость работы для выполнения научных планов по исследованию живых систем (в области биомедицины).

Обнаруженные данные о протекторных свойствах фактора роста нервов при угнетении синаптической пластичности в гиппокампе бета амилоидным пептидом будут полезны при изучении патогенеза ряда заболеваний ЦНС, связанных с нарушениями в обучения и памяти. Обнаруженный нейропротекторный эффект NGF подтверждает перспективность использования фактора роста нервов в качестве возможного терапевтического агента при нейродегенеративных заболеваниях.

Полученные результаты могут быть использованы при чтении лекций в средних специальных (медицинских) и высших учебных заведениях, а также при разработке новых подходов при терапии нейродегенеративных заболеваний. Работу следует продолжить в

Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН и лабораториях ведущих научных центров России.

Общие замечания

Серьёзных недостатков в диссертационной работе не обнаружено, однако есть некоторые замечания и комментарии.

1. Литературный обзор и Обсуждение изложены чрезвычайно компактно. Хотя эти главы и содержат самые необходимые сведения, касающиеся работы, однако было бы уместным более подробно привести имеющиеся в литературе сведения о нарушении долговременной потенциации и обучения на различных моделях болезни Альцгеймера, их предполагаемых механизмах и изменениях содержания нейротрофических факторов в мозге при нейродегенерации. В обзоре встречаются досадные ошибки/опечатки; в частности, когда описывается роль NGF в выживании холинергических нейронов переднебазального мозга, неоднократно пишется о нейронах базальных ганглиев переднего мозга, хотя холинергические нейроны переднего мозга содержатся лишь в медиальной септальной области и базальном ядре Мейнерта.

2. Относительно полученных результатов. В работе желательным было бы проверить протекторное действие нейротрофинов на синаптическую пластичность в экспериментах *in vivo*, при введении A β непосредственно в мозг/гиппокамп и исследовании долговременной потенциации в нативном гиппокампе. Это добавило бы уверенности в правомерности утверждения их различной регуляторной роли в данной системе связи.

Интересным было бы также проверить протекторное действие нейротрофинов на другой системе связи в гиппокампе, с несколько иными механизмами LTP: зубчатая фасция-поле CA3 гиппокампа. LTP в синапсах мшистых волокон на пирамидах CA3 имеет ряд нетипичных особенностей, в частности, она почти не зависит от постсинаптических NMDA рецепторов, а ключевую роль в развитии пластичности играют пресинаптические механизмы, связанные с открытием кальциевых каналов и запуском каскада цАМФ. Такое сравнительное исследование дало бы более убедительные результаты, показывающие универсальность протекторного действия на синаптическую пластичность при амилоидной токсичности именно NGF, но не BDNF.

3. В Обсуждении, как представляется, исходя из выявления отсутствия протекторного влияния возросшего уровня BDNF на синаптическую пластичность, следовало бы более подробно рассмотреть существующие работы об изменениях содержания и/или транспорта BDNF в мозге, сыворотке крови, изменениях BDNF-сигналинга на моделях болезни Альцгеймера, а также о возможной протекторной роли

BDNF на сходных или других моделях нейропатологий. Таких работ достаточно много в современной литературе, но они, к сожалению, не цитируются и не приводятся в диссертации.

Однако эти замечания не снижают ценности проделанной работы, и являются скорее пожеланиями на будущее.

Заключение

Диссертация представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Полученные в работе данные вносят вклад как в понимание механизмов синаптической пластичности в гиппокампе нормального мозга, так и их нарушений при нейродегенерации Альцгеймеровского типа. Выводы достаточно обоснованы.

Работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата наук по специальностям 03.03.01 – «Физиология», и 03.01.03 – «Молекулярная биология».

Зав. лаб. Системной организации нейронов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН,

д.б.н., специальность 03.00.13 – «Физиология человека и животных»,

Kir - /В.Ф. Кичигина/

Подпись Кичигиной В.Ф. удостоверяю

Ведущий научный сотрудник (д.б.н. В.Ф. Кичигина)

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук. 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3, ИТЭБ РАН.