

ОТЗЫВ

главного научного сотрудника лаборатории нейробиологии и основ развития мозга ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей», Министерства здравоохранения Российской Федерации, д. м. н., профессора Всеволода Григорьевича Пинелиса на диссертационную работу Копаевой Марины Юрьевны «Экспериментальное исследование эффектов лактоферрина при радиационном и нейротоксическом воздействиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность исследования

Диссертационная работа Копаевой Марины Юрьевны «Экспериментальное исследование эффектов лактоферрина при радиационном и нейротоксическом воздействиях» является актуальной прежде всего потому, что, учитывая на современном этапе сочетание патогенных и адаптивных процессов, необходим поиск эффективных терапевтических средств, способных к полисистемному влиянию на возникновение и действие различных патогенных факторов. Диссертант выбрала 2 патологических процесса, чрезвычайно актуальных в настоящее время. Это воздействие ионизирующего излучения и нейродегенеративные заболевания (болезнь Паркинсона), вопросы патогенеза которых еще очень далеки до своего окончательного решения. Актуальным является изучение при указанных патологических процессах человеческого лактоферрина (чЛФ). Представляется весьма актуальным изучение механизмов действия этого вещества, обладающее определенными антиоксидантными, иммуномодулирующими, участвующего в транспорте железа и ранее изученного недостаточно.

Научная значимость, теоретическая и прикладная ценность исследования определяется установлением следующих основных закономерностей:

1. Разработан уникальный комплексный подход с использованием современных биохимических, микроскопических, молекулярно-генетических исследований для изучения механизмов действия чЛФ при тотальном остром гамма-облучении мышей в сублетальной дозе и экспериментальной модели болезни Паркинсона у мышей с МФТП-индуцированной гибелью нейронов.

2. Впервые исследовано влияние чЛФ при его двукратном введении на поведение мышей и экспрессию ТГ в нигростриатной системе мозга животных в отдаленные сроки (через 28 дней после индукции) и на динамику изменения количества ТГ+ волокон в стриатуме и количества ТГ+ нейронов в ЧСС (через 2 и 28 дней после индукции) в модели МФТП-индуцированной гибели нейронов. Показано, что введение чЛФ способствовало восстановлению функциональной активности ТГ+ клеток нигростриатной системы после острого воздействия нейротоксина.

3. Впервые экзогенный чЛФ детектирован с помощью флуоресцентного ИГХ анализа, и обнаружены высокоспецифичные сайты связывания белка в ядрах нейронов, астроцитов и клеток микроглии в мозге мыши.

4. Получены оригинальные данные о влиянии чЛФ на экспрессию транскрипционного фактора c-Fos в гиппокампальных культурах клеток мозга мышей после стимуляции 50 mM KCl, выявлена его способность усиливать экспрессию этого транскрипционного фактора, показана колокализация экзогенного чЛФ с белком c-Fos после стимуляции.

5. Показано, что исследуемый белок позитивно влияет на изменения количества тирозин-гидроксилаза-позитивных нейронов и волокон в нигростриатной системе мышей после воздействия МФТП и на их поведение. Кроме того, установлена способность человеческого лактоферрина восстанавливать число ТГ+клеток и ТГ-иммунореактивных волокон в отдаленные сроки (4 недели) после острого воздействия МФТП;

Таким образом, полученные в исследовании М.Ю. Копаевой результаты имеют большое теоретическое и практическое значение и могут быть использованы для изучения механизмов действия лактоферрина в эксперименте и разработки на основе этого белка фармакологических средств профилактики и терапии различных заболеваний.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Достоверность диссертационного исследования определяется достаточным количеством экспериментальных животных и культур клеток. Полнота экспериментальных исследований и использование современного оборудования обусловили высокую степень обоснованности представленных в диссертации научных положений и выводов. Для обработки полученных результатов были применены современные методы статистического анализа. Все выводы

диссертации обоснованы и четко сформулированы и вытекают из результатов, полученных в данной работе.

Результаты исследования отражены в 12 опубликованных научных работах, 5 из которых представляют собой статьи в рецензируемых научных журналах из актуального «Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» и приравненных к ним изданий, неоднократно докладывались и обсуждались на международных и российских конференциях.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Высокая достоверность результатов обеспечена использованием при выполнении исследования современных стандартизированных общепринятых методов и валидных шкал. В работе использовано сертифицированное оборудование и реактивы, соблюдались инструкции работы с ними. Дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам. Статистическая обработка данных выполнена на современном уровне. Полученные Копаевой М.Ю. данные не противоречат и сопоставимы с результатами других отечественных и зарубежных исследовательских групп.

Разработан уникальный комплексный подход с использованием современных биохимических, микроскопических, молекулярно-генетических исследований для изучения механизмов действия чЛФ при тотальном остром гамма-облучении мышей в сублетальной дозе и экспериментальной модели болезни Паркинсона у мышей с МФТП-индуцированной гибелью нейронов.

Впервые исследовано влияние чЛФ при его двукратном введении на поведение мышей и экспрессию ТГ в нигростриатной системе мозга животных в отдаленные сроки (через 28 дней после индукции) и на динамику изменения количества ТГ+ волокон в стриатуме и количества ТГ+ нейронов в ЧС (через 2 и 28 дней после индукции) в модели МФТП-индуцированной гибели нейронов. Показано, что введение чЛФ способствовало восстановлению функциональной активности ТГ+ клеток нигростриатной системы после острого воздействия нейротоксина.

Впервые экзогенный чЛФ детектирован с помощью флуоресцентного ИГХ анализа, и обнаружены высокоспецифичные сайты связывания белка в ядрах нейронов, астроцитов и клеток микроглии в мозге мыши.

Получены оригинальные данные о влиянии чЛФ на экспрессию транскрипционного фактора c-Fos в гиппокампальных культурах клеток мозга

мышей после стимуляции 50 мМ KCl, выявлена его способность усиливать экспрессию этого транскрипционного фактора, показана колокализация экзогенного чЛФ с белком c-Fos после стимуляции. Исследуемый белок позитивно влияет на изменения количества тирозингидроксилаза-позитивных нейронов и волокон в нигростриатной системе мышей после воздействия МФТП и на их поведение. Кроме того, показана способность человеческого лактоферрина восстанавливать число ТГ+клеток и ТГ-иммунореактивных волокон в отдаленные сроки (4 недели) после острого воздействия МФТП;

Значимость для науки и практики полученных результатов.

Результаты настоящей работы имеют научно-практическую значимость для фундаментальной медицины, получены ряд основополагающих данных о терапевтическом влиянии чЛФ при выбранных моделях патологии, выяснен ряд основополагающих механизмов его действия.

Оценка содержания диссертации

Диссертация традиционно составлена и оформлена в соответствии с рекомендациями ВАК РФ. изложена на 140 страницах, включает 2 таблицы и 38 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы, содержащего 30 отечественных и 218 иностранных источников.

Во введении обоснована актуальность темы работы, обсуждаются существующие направления исследований в рамках решения избранной проблемы. Также во введении формулируются цель и задачи диссертационной работы, дается общая оценка по традиционным критериям, приведены положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» приведены данные современной научной отечественной и зарубежной литературы. В обзоре представлена информация о современном состоянии рассматриваемых вопросов, обоснована целесообразность и своевременность проведенного исследования.

В главе «Материалы и методы» описаны материалы и методы, использованные при выполнении работы. Следует отметить, что выполнение экспериментальной части работы потребовало чрезвычайно широкого арсенала современных методик. Методический инструментарий, используемый в работе, описан в полном объеме и соответствует решаемым задачам. Статистическая обработка результатов осуществлена на высоком уровне.

Изложение собственных результатов автора разбито на 4 главы, в которых представлены и обсуждаются данные проведенных экспериментов на каждом этапе работы. В разделе «Заключение» полученные в работе результаты сопоставлены с материалами, имеющимися в мировой литературе.

Выводы, сделанные М.Ю. Копаевой, конкретны, непосредственно вытекают из результатов исследования и соответствуют поставленным задачам, их обоснованность не вызывает сомнений.

Диссертация написана хорошим научным языком, тщательно отредактирована.

Диссертационная работа и автореферат написаны в соответствии с требованиями Национального стандарта «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». Опубликованные работы полностью отражают представленные результаты.

Принципиальных замечаний по автореферату и диссертации нет. Однако хотелось получить ответы на некоторые вопросы:

1. чЛФ успешно применялся в терапии 2 системных моделях: субтотальное рентгеновское облучение и модель болезни Паркинсона, таргетные мишени были выбраны разные, что не позволяет оценить общие механизмы терапевтического действия чЛФ.

2. Автор показала, что механизм действия чЛФ в выбранных экспериментальных моделях, по-видимому, связан с прерыванием одного или сразу нескольких звеньев патогенеза, общих для радиационного и нейротоксического поражений: активации реакций свободнорадикального окисления, воспаления, нарушения регуляции репарации ДНК и т.д. Возможно это правильная гипотеза, но она не подтверждена собственными результатами, что не позволяет ее принять.

3. Диссертант большое внимание уделила влиянию чЛФ на метаболизм железа. Возникает вопрос оценивалось ли влияние на другие виды ионного гомеостаза, например, в экспериментальной модели болезни Паркинсона.

4. Имеются ли данные о применении чЛФ в клинических условиях?

Заключение

Анализ диссертации, автореферата и основных работ автора подтверждает, что по актуальности, новизне полученных результатов, объему, уровню выполнения исследований диссертационная работа Копаевой Марины Юрьевны на тему «Экспериментальное исследование эффектов лактоферрина при радиационном и нейротоксическом воздействиях», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-

квалификационной работой, направленной на решение конкретной научной задачи исследования роли лактоферрина в реализации защитных и компенсаторных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, диссертационная работа Копаевой Марины Юрьевны соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (пункты №9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 с последующими редакциями), а ее автор, Копаева М. Ю., заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей», Министерства здравоохранения Российской Федерации,

д. м. н. профессор



В.Г. Пинелис

Подпись профессора, д.м.н. В.Г. Пинелиса «Удостоверяю»

Заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Минздрава России
доктор медицинских наук



Е.В. Антонова

1 ноября 2022 г.

ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

119296, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1

Телефон: +7499-134-30-83

Официальный сайт: <http://nczd.ru>. Адрес электронной почты: director@nczd.ru