

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук
Яснецова Виктора Владимировича на диссертационную работу
Денисовой Алины Евгеньевны на тему: «Действие пептидных препаратов на
экспрессию генов в условиях экспериментальной модели преходящей
ишемии мозга у крыс», представленную на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика**

Актуальность темы

Ишемический инсульт занимает ведущее место в структуре смертности и инвалидизации среди взрослого населения развитых стран. При этом значительная доля инсультов приходится на продуктивный возраст и, таким образом, представляет собой существенное социально-экономическое бремя как для самих пациентов и их семей, так и для общества в целом. В настоящее время только реперфузионная терапия, включающая тромболизис или тромбоэкстракцию, признана достоверно эффективной. Однако она ограничена временем терапевтического окна. Поэтому разработка эффективных и относительно безопасных методов фармакотерапии ишемического инсульта, не столь сильно привязанных к узким срокам применения, представляется актуальной и современной задачей.

В последние годы возобновился научный интерес к изучению регуляторных пептидов – глипролинов, метаболиты которых способны обладать самостоятельными фармакологическими эффектами. Вместе с тем механизмы их действия и молекулярные мишени до конца не изучены.

Несмотря на многочисленные научные исследования в области цереброваскулярной патологии продолжают оставаться не полностью ясными и патофизиологические процессы, протекающие в головном мозге в условиях ишемически-реперфузионного поражения. Учитывая важную роль регуляции экспрессии генов при сосудистых заболеваниях головного мозга, новые высокопроизводительные технологии, такие как секвенирование РНК, могут помочь в исследовании молекулярных основ указанных процессов при ишемическом инсульте.

В связи с этим работа А.Е.Денисовой, посвященная изучению влияния пептидов глипролинового ряда Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro (лекарственный препарат семакс), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на экспрессию генов, участвующих в процессах воспаления и нейротрансмиссии при преходящей фокальной ишемии головного мозга в эксперименте, является своевременной и актуальной.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью адекватных методов математической статистики, общепринятых в медико-биологических исследованиях, а также с применением современного программного обеспечения, что обуславливает достоверность полученных результатов и сделанных на этом основании выводов.

В работе представлены новые данные об ответе транскриптома в различные временные точки в условиях ишемически-реперфузионного поражения головного мозга, а также при введении лекарственного препарата семакса. Показано влияние пептидов Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на экспрессию ряда генов, участвующих в воспалении и передаче сигналов в центральной нервной системе.

Кроме того, проведена оценка влияния семакса на показатель выживаемости, размер инфаркта головного мозга и динамику неврологических нарушений у животных в течение 14 дней при данной экспериментальной патологии.

Необходимо отметить, что автором выбрана модель ишемии с эндоваскулярной окклюзией средней мозговой артерии, которая наиболее точным образом воспроизводит события, происходящие в головном мозге человека при окклюзии M1-сегмента средней мозговой артерии, являясь максимально приближенной к клинической ситуации. Еще одним преимуществом работы представляется использование для контроля корректности воспроизведения указанной модели современного магнитно-резонансного томографа для малых лабораторных животных (напряженность магнитного поля 7 Тл).

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

Учитывая достаточный объем хорошо спланированных исследований, выполненных на животных (144 крысы-самцы линии Вистар), соответствие условий их содержания и проведения экспериментов действующим требованиям, использование современных и адекватных поставленным задачам методов исследования (молекулярно-генетических, морфологических, магнитно-резонансной томографии и др.) и высокотехнологичного оборудования, детальный анализ полученных результатов можно утверждать, что положения, выводы и рекомендации диссертации являются научно обоснованными.

Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным цели и задачам диссертации и логически вытекают из результатов проведенного исследования.

Ценность для науки и практики результатов работы

Результаты работы по изучению влияния пептидных соединений глипролинового ряда на экспрессию генов в условиях ишемически-реперфузионного поражения головного мозга позволили уточнить терапевтические мишени для широко и длительно применяющегося в клинической практике лекарственного препарата семакса, а также для глипролинов Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro.

Представленная диссертантом в рамках полногеномного исследования оценка ответа транскриптома при синдроме ишемии-реперфузии имеет значительную научно-практическую ценность для дальнейших углубленных исследований в области патофизиологии, генетики, фармакологии и экспериментальной неврологии.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и изложена на 179 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора

литературы, главы с описанием материалов и методов, главы с результатами исследования и их обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Библиографический указатель включает 226 источников, в том числе 209 ссылок на иностранные публикации и 17 ссылок на работы, напечатанные в российских журналах. Диссертационная работа содержит 10 таблиц и иллюстрирована 19 рисунками.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, четко определена цель исследования, сформулированы 4 последовательные задачи, описаны научная новизна и практическая значимость, приведены 4 положения, выносимые на защиту, а также изложена информация о внедрении и апробации результатов работы.

В обзоре литературы дана комплексная оценка современного состояния исследований по теме диссертации: подробно описаны существующие экспериментальные модели острой ишемии головного мозга, основные патофизиологические процессы, протекающие в головном мозге при ишемическом поражении, а также современные молекулярно-генетические методики анализа транскриптома. Кроме того, в данном разделе проведен анализ данных литературы по генетическим исследованиям в указанной области и охарактеризованы пептиды глипролинового ряда.

В главе 2 («Материалы и методы») приведена подробная характеристика животных и дизайн экспериментального исследования, изложены методики выполнения всех оперативных вмешательств и магнитно-резонансной томографии. Также описаны использованные современные молекулярно-генетические методы – секвенирования РНК, полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с заранее подобранными праймерами – и методы статистической обработки полученных данных.

В главе 3 проведен анализ результатов исследования и их обсуждение. Подробно описаны полученные в ходе полногеномного секвенирования данные об экспрессии генов в условиях экспериментальной модели ишемически-реперфузионного поражения и при применении используемого в клинической

практике лекарственного препарата семакса. Следует отметить, что полученные результаты подтверждены методом ОТ-ПЦР. Кроме того, установлено, что семакс не вызывает достоверного изменения экспрессии в ранние часы после реперфузии, однако через сутки он продемонстрировал компенсаторный эффект на экспрессию множества генов, меняющуюся при изучаемой сосудистой патологии головного мозга. Показано влияние глипролинов Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на экспрессию генов, участвующих в передаче сигналов в центральной нервной системе.

В отдельных разделах главы подробно описаны результаты комплексной оценки терапевтической эффективности семакса у крыс на модели фокальной ишемии, а именно приведен анализ выживаемости животных, общего неврологического дефицита и изменения объема очага инфаркта головного мозга.

В разделе «Заключение» кратко обобщены полученные результаты и сформулированы перспективы разработки темы в дальнейшем.

Таким образом, автором проведен достаточный объем исследований для решения поставленных задач и достижения цели. Обсуждение результатов и сформулированные выводы не вызывают возражений. Выводы и практические рекомендации отвечают на вопросы, обозначенные в задачах работы, и вытекают из собственных исследований автора.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 6 статей в рецензируемых журналах (по специальности «Генетика»), рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, включая 3 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus. Материалы диссертации докладывались на научно-практических конференциях.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Основные этапы выполнения и ключевые результаты работы, а также выводы и практические рекомендации представлены в автореферате, оформленном в соответствии с современными требованиями.

Замечания по работе:

Принципиальных возражений диссертация не вызывает, однако в ней, как и в любой большой работе, встречаются опечатки и неточности.

Также при ознакомлении с работой возникли следующие вопросы:

1. Чем обусловлен выбор доз исследованных Вами пептидов семакса, Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu?

2. Какой из изученных в работе компонентов механизма нейропротекторного действия семакса при преходящей фокальной ишемии головного мозга у крыс – изменение экспрессии генов, участвующих в нейротрансмиссии, иммунном ответе или воспалении – является ведущим?

Необходимо отметить, что заданные вопросы, безусловно, не влияют на общую положительную оценку диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Денисовой Алины Евгеньевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи – изучение влияния лекарственного препарата семакса и других пептидов глипролинового ряда на экспрессию генов, участвующих в процессах воспаления и нейросигнализации в условиях преходящей фокальной ишемии мозга у крыс как возможных компонентов механизма их нейропротективного действия, имеющей важное значение для генетики, неврологии и фармакологии. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в

федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Денисова Алина Евгеньевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии, заместитель заведующего отделом космической радиобиологии и фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ – ИМБП РАН), доктор медицинских наук (14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология)



Яснецов Виктор Владимирович

«2» сентября 2025 г.

Подпись д.м.н. Яснецова В.В. заверяю

Ученый секретарь
ГНЦ РФ – ИМБП РАН,
доктор биологических наук



Левинских М.А.

Адрес организации: 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А.
Телефон: 8 (499) 195-23-63, e-mail: doc@imbp.ru