

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, директора научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, профессора кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Полоникова Алексея Валерьевича на диссертационную работу Денисовой Алина Евгеньевна 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 (ИИ) остается одной из актуальных проблем современной медицины во всем мире. Разработка и практическое внедрение эффективных способов лечения постишемических повреждений мозга может способствовать снижению инвалидизации пациентов с ИИ, тем самым, улучшить качество жизни и одновременно снизить экономические затраты системы здравоохранения. На сегодняшний день единственными доказанными и эффективными методами лечения ИИ являются механическая тромбэктомия и внутривенный тромболизис. Однако данные методы лечения применимы только к незначительному числу пациентов с ИИ из-за ограниченного по времени терапевтического окна, что обосновывает необходимость поиска новых лекарственных мишеней и эффективных нейропротективных препаратов.

На данный момент современные технологии транскриптомики, например, секвенирование РНК, способны помочь исследователям в поиске взаимосвязи между молекулярными механизмами и клиническими проявлениями ИИ. Анализ транскриптома при церебральной ишемии может выявить ключевые

молекулярные изменения, идентифицировать ключевые регуляторные гены в путях, связанных с ишемическим повреждением мозга, и выявить молекулярные мишени для разработки новых лекарственных препаратов. В этой связи диссертационная работа Денисовой Алины Евгеньевны, посвященная изучению экспрессии генов в условиях ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга у крыс, а также поиску механизмов, лежащих в основе терапевтических эффектов пептидных соединений (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro (семакс), Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu)) является актуальной и имеет высокую научно-практическую значимость.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Достоверность диссертационного исследования Денисовой Алины Евгеньевны не вызывает сомнения. Научное исследование выполнено на достаточно большой выборке экспериментальных животных (144 самца крыс линии Вистар), с использованием современных методов исследования, включая молекулярно-генетические, статистические и биоинформатические методы. Методом секвенирования РНК нового поколения был выявлен ответ транскриптома в подкорковых структурах головного мозга крыс в условиях модели эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии. Таким образом, были получены новые данные о транскрипции генов и отличиях в их экспрессии в условиях актуальной модели экспериментальной ишемии головного мозга. Также в рамках исследования автором впервые изучены влияния глипролиновых соединений на экспрессию ряда генов, участвующих в воспалительном ответе и передаче сигналов в центральной нервной системе. Впервые установлены изменения экспрессии генов на фоне применения известного в клинической практике препарата семакс.

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

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы научных положений, выводов и рекомендаций определяется высоким научно-методическим уровнем выполненных исследований, достаточным объемом материалов, использованием современных инструментальных (МРТ), гистологических, молекулярно-генетических методов, включая РНК секвенирование и ПЦР в режиме реального времени, а также статистических и биоинформатических методов. Все исследования проведены на современном сертифицированном научном оборудовании.

Ценность для науки и практики результатов работы

Полученные в ходе проведенного диссертационного исследования данные об экспрессии генов в условиях экспериментальной модели ишемии, а также при влиянии пептидных соединений глипролинового ряда, могут быть использованы для дальнейшего поиска биомаркеров ишемического инсульта, терапевтических мишеней для разработки новых препаратов для борьбы с заболеванием и его исходами. Полученные в ходе научной работы результаты внесут значимый вклад в развитие медицинской генетики, патофизиологии, фармакологии и неврологии. Результаты проведенного исследования могут быть рекомендованы для использования в работе научно-исследовательских институтов и лабораторий, а также в учебном процессе в образовательных учреждениях медицинского и медико-биологического профиля.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и изложена на 179 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Библиографический указатель содержит 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.

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

В главе 1 (обзор литературы) дана оценка современного состояния исследований по теме диссертации. Глава содержит подробный обзор существующих экспериментальных моделей острой ишемии головного мозга у лабораторных животных. Также в главе подробно освещены современные молекулярно-генетические методы, патофизиологические и генетические основы ишемически-реперфузионного повреждения. Приведены данные о различных пептидах меланокортинового ряда, которые оказывают защитное действие при гипоксических состояниях у животных и человека.

В главе 2 (материалы и методы) представлен дизайн экспериментального исследования, направленный на последовательное решение поставленных в диссертационной работе задач. Приведена подробная характеристика лабораторных животных, изложена методика выполнения всех микрохирургических манипуляций с лабораторными животными, подробно описана методика выполнения магнитно-резонансного исследования, методы гистологического исследования. В работе использованы адекватные и современные молекулярно-генетические методы, подробно описана методика проведения секвенирования РНК, методика ПЦР с обратной транскрипцией с заранее подобранными праймерами. Описаны 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 повреждения и при применении используемого в клинической

практике препарата семакс. Все результаты подтверждены с помощью метода ПЦР с обратной транскрипцией. В работе показан компенсаторный эффект семакса на экспрессию множества генов, измененных в условиях ишемически-реперфузионного повреждения. Показано влияние перспективных глипролинов (Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu) на экспрессию некоторых генов, принимающих участие в процессах передачи нервных сигналов в центральной нервной системе и в воспалительном ответе.

Автором детально описаны результаты комплексной оценки терапевтической эффективности препарата семакс у крыс на модели фокальной ишемии, а именно приведен анализ выживаемости лабораторных животных, общего неврологического дефицита, изменение объема очага инфаркта головного мозга. Подробно описаны и хорошо проиллюстрированы результаты гистологического исследования структур головного мозга в условиях ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга. Выводы и практические рекомендации отражают ответы на вопросы, обозначенные в задачах исследования, и вытекают из полученных результатов.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

Материалы диссертации были многократно доложены, обсуждены и одобрены на научно-практических конференциях федерального и международного уровней. По теме диссертационной работы Денисовой А.Е. опубликованы 7 статей, из которых 6 в рецензируемых медицинских изданиях по специальности «Генетика».

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен согласно рекомендациям ВАК, в нем отражены все этапы выполнения и ключевые позиции содержания работы, а также выводы и практические рекомендации.

Замечания и вопросы по работе:

В целом по структуре и содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет. Вместе с тем к диссертации имеются некоторые вопросы и замечания.

1. Насколько специфичны постишемические изменения экспрессии генов, вызванные экспериментом? Учитывая относительную малочисленность исследованных групп при транскриптомном анализе, насколько ваши данные сопоставимы с аналогичными исследованиями, выполненными на крысах и других животных моделях?
2. Можно ли однозначно утверждать, что изменения экспрессии генов в мозге после введения крысам пептидных препаратов (в частности, семакса) вызваны именно этими препаратами, а не продуктами их эндогенного протеолиза? Этот вопрос возник в связи с тем, что пептиды, введённые в кровь, подвергаются действию различных гидролаз, в результате чего образуются промежуточные пептиды и аминокислоты. В частности, аминокислоты Glu и Gly, входящие в состав исследуемых пептидов, обладают известными регуляторными свойствами в тканях мозга и, кроме того, служат основой для синтеза глутатиона — трипептида (Glu-Cys-Gly), который, как известно, является мощным природным антиоксидантом и нейропротектором. Исходя из проведенного вами эксперимента, можно ли однозначно утверждать, что выявленные изменения в экспрессии генов не связаны с действием продуктов протеолиза изучаемых препаратов?

3. Положения, выносимые на защиту 1 и 2, по сути, описывают одни и те же результаты исследования. Их можно было бы объединить в одно положение, в котором указать выявленные постишемические изменения дифференциально экспрессируемых генов, а также тенденции изменения экспрессии генов после применения пептидных препаратов, конкретизируя гены по группам в зависимости от выполняемых ими биологических функций. Что касается других положений, то было бы более наглядным представить примеры разных групп генов, которых касались те или иные изменения в экспрессии.

4. Анализ основных результатов работы показывает, что при ишемически реперфузионном повреждении спустя 4,5 и 24 часа после начала окклюзии в подкорковых структурах головного мозга на первый план выходят нарушения фолдинга белков и стресс эндоплазматического ретикулума (клеточный ответ на несвернутые белки), которые иллюстрируются крайне выраженными изменениями в экспрессии генов, вовлечённых в данные биологические процессы. Так уровни мРНК гена белка теплового шока Hspa1 и транскрипционного фактора Atf3 были увеличены более чем в 80 раз в 64 раза, соответственно. Однако автор не комментирует и не обсуждает данные нарушения, несмотря на тот факт, что эти биологические процессы сегодня активно исследуются и им отводится ключевая патогенетическая роль в формировании постишемических повреждений мозга.

Тем не менее, не смотря на высказанные замечания и вопросы, диссертационная работа производит благоприятное впечатление. В диссертации встречаются незначительные стилистические и грамматические ошибки, однако, это не снижает качества представленной работы и её общей положительной оценки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационное исследование Денисовой Алины Евгеньевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на экспериментальной модели ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга получены новые данные о дифференциально экспрессирующихся генах, что может в дальнейшем служить отправной точкой для поиска новых «мишеней» в лечении ишемического инсульта. Работа имеет практическую направленность, так как решает сфокусирована на поиске возможных механизмов действия применяющегося в клинической практике пептида семакс, а также таргетных точек для других пептидов глипролинового ряда (Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu), что имеет большое значение для медицинской генетики. 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.

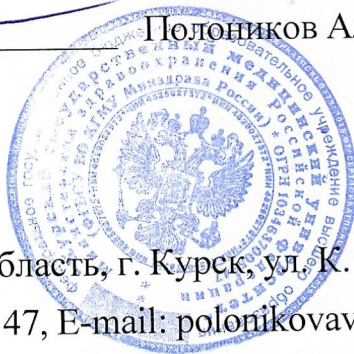
Официальный оппонент:

директор научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России), доктор медицинских наук (специальность 03.02.07 «Генетика»), профессор



Полоников Алексей Валерьевич

28.08.2025



305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3
тел.: +7-4712-588147, E-mail: polonikovav@kursksmu.net
Сайт университета: <https://kurskmed.com/>

Подпись Полоникова А.В. заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательного учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 305041 г. Курск, ул. Карла Маркса, 3, Телефон: (4712) 58-81-32, E-mail: kurskmed@mail.ru.