

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию Смолиной Анастасии Васильевны «Физико-химические механизмы действия водорастворимых производных фуллерена C₆₀ на терапевтические мишени болезни Альцгеймера», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Целью диссертации явилось комплексное исследование физико-химических механизмов действия водорастворимых производных фуллерена C₆₀ на терапевтические мишени болезни Альцгеймера (БА). В работе нет сведений об эффективности этих производных в лечении собственно болезни. Смысл диссертации заключался в изучении ряда свойств производных фуллеренов, которые в перспективе могут привести к созданию препаратов, селективно воздействующих на терапевтические мишени БА. Безусловно, тема диссертации актуальна и перспективна с точки зрения создания нового класса лекарственных препаратов.

Диссертация изложена на 143 страницах и включает введение, литературный обзор, экспериментальную часть, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список использованной литературы (291 ссылка). 30 рисунков и 4 таблицы в достаточной мере иллюстрируют работу.

Обзор литературы посвящен анализу проблемы, описанию свойств и биологической активности фуллеренов и их производных, а также рассмотрены возможные терапевтические мишени БА. Обзор написан хорошо, содержит все необходимые для работы сведения и свидетельствует о высокой квалификации автора. Замечаний к этой части работы нет.

В экспериментальной части описаны методы приготовления образцов, приборы и аппаратура, а также технология проведения измерений. Следует отметить, что были использованы многочисленные экспериментальные методы исследования, вполне достаточные для получения надежных данных и грамотного обсуждения результатов диссертационной работы.

Исследовательская часть работы посвящена изучению влияния водорастворимых производных фуллерена C₆₀ на терапевтические мишени и процессы, сопровождающие болезнь Альцгеймера, и поведение животных. Были исследованы 8 соединений – 3 вида водорастворимых полизамещенных производных фуллерена C₆₀, 4 гибридные структуры фуллерена C₆₀ и биологически активное вещество, не содержащее фуллерена. Получен большой спектр экспериментальных результатов, среди которых можно выделить следующие. Так, ППФ I-III тушат флуоресценцию пирена за счет образования долгоживущих комплексов зонд-ППФ, что свидетельствует о

проникновении соединений I-III в гидрофобные сайты мембран. При этом они локализуются как в области полярных головок, так и в области жирнокислотных остатков фосфолипидных модельных мембран. Эти же соединения были исследованы с точки зрения их влияния на активность MAO-B и свободнорадикальное окисление липидов. Оказалось, что ППФ I, ГФС V и VI конкурентно, а ППФ II неконкурентно ингибируют ферментативную активность MAO-B. Кроме того, ППФ и ГСФ обладают антиоксидантной и антирадикальной активностью. При этом антирадикальная активность определяется, главным образом, акцепторными свойствами сфероида фуллерена.

Очень интересным является раздел диссертации, в котором изучалось влияние ППФ на функциональное состояние ионотропных глутаматных AMPA и NMDA рецепторов. Дело в том, что позитивная модуляция работы ионотропных AMPA рецепторов нейронов центральной нервной системы млекопитающих усиливает синаптическую передачу, способствуя формированию и улучшению памяти, запускает механизм экспрессии генов и всегда свидетельствует о потенциальной когнитивно-стимулирующей активности исследуемых соединений. Автор установила, что ППФ I и II, а также ГСФ VI являются позитивными модуляторами ионотропных глутаматных AMPA рецепторов ЦНС млекопитающих, что свидетельствует об их потенциальной когнитивно-стимулирующей активности. С другой стороны, эти соединения не проявляют нейротоксичных свойств, так как они не активируют ионотропные глутаматные NMDA рецепторы.

В результате были выбраны три соединения – лидера (ППФ I, ППФ II и ГСФ VI), которые обладают антиоксидантной активностью, ингибируют каталитическую активность моноаминоксидазы B, предотвращают образование β - амилоидных фибрилл *in vitro*. Эти же соединения потенциально обладают когнитивно-стимулирующей активностью, что подтвердили тесты на животных. Очевидно, отобранные ВРПФ–лидеры можно рекомендовать для дальнейших углубленных исследований и создания на их основе препаратов для лечения нейродегенеративных патологий. Это – основное достижение автора, которое является очень важным и может быть использовано при разработке препаратов для лечения заболеваний, сопровождающихся нарушением когнитивных функций.

Я высоко оцениваю результаты данного исследования и считаю его весьма перспективным. Замечаний по сути работы у меня нет. Вместе с тем, есть ряд вопросов, на которые хотелось бы получить ответ.

1. Стр. 57, тестирование. Автор пишет, что объекты располагались в линию. Действительно, т.к. объектов всего 2, они всегда располагаются в линию, это излишнее уточнение автора.

2. Стр. 67. Автор утверждает, что при добавлении ППФ одинаково тушатся как мономерная, так и эксимерная формы пирена. Это нетривиальный результат и хотелось бы услышать, каков механизм тушения этих форм пирена.
3. При действии на различные мишени брались на порядок отличающиеся по концентрации ППФ. Так, на рис. 3.6 концентрация составляла $2.5 \cdot 10^{-6}$ М, на рис. 3.9 оптимальной оказалась концентрация 10^{-7} М. Автор ограничился только этим фактом, хотя, по-моему, хорошо бы обсудить, какую же концентрацию нужно рекомендовать для дальнейших исследований.
4. Рис. 3.6, 3.7. Контрольные линии на этих рисунках имеют разные наклоны, хотя контрольные измерения проводились одинаковым образом и должны бы иметь одинаковый наклон.

Основные результаты работы опубликованы в зарубежных и отечественных журналах, обсуждены на 8 конференциях, что подтверждает их актуальность и достоверность, автореферат адекватно отражает содержание диссертации.

Подводя итог, отмечу, что представленная к защите диссертационная работа «Физико-химические механизмы действия водорастворимых производных фуллерена C_{60} на терапевтические мишени болезни Альцгеймера» выполнена в рамках поставленных задач, является добротным исследованием, отвечающим требованиям Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор Смолина Анастасия Васильевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «биофизика – 03.01.02».

119991, Москва, Ленинские горы, д. 1.
Тел. 8(495) 939-11-07
E-mail: vz.paschenko@gmail.com

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед биологического факультета МГУ

Подпись В.З. Пащенко заверяю Ученый секретарь биологического факультета ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова

Пащенко Владимир Захарович,
доктор физико-математических наук,
профессор, заведующий сектором
биофотоники кафедры биофизики
биологического факультета
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
Московского государственного
университета имени М. В. Ломоносова

Елена Вячеславовна Петрова

08.09.2015г.