

эффективных нейрпсихотропных препаратов с оригинальным механизмом действия.

Актуальность исследования также обоснована необходимостью более глубокого понимания молекулярных основ нейродегенеративных заболеваний и разработки новых методов их терапии. В работе рассмотрены современные проблемы и недостаточно изученные аспекты нейротрофической регуляции, что подтверждает ее высокую значимость для науки. Диссертационное исследование также направлено на решение существенного недостатка фармакокинетики BDNF – слабого прохождения через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В работе показано, что низкомолекулярный миметик BDNF ГТС-201 обладает более высоким проникновением через ГЭБ, что позволяет увеличить поступление нативного белка в головной мозг.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Связь данной работы с планами развития отраслей науки и народного хозяйства выражается в том, что результаты исследования направлены на решение ключевых задач государственной программы развития биомедицинской науки, а также применимы в фармацевтической промышленности для создания инновационных лекарственных средств. Работа соответствует приоритетам развития фундаментальных и прикладных исследований в области биологии, медицины и фармакологии как актуального направления научно-технической политики.

Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором

Целью исследования диссертанта было изучение фармакологических свойств новых оригинальных миметиков BDNF. На основании цели было сформулировано 7 задач, которые включали оценку анксиолитического действия трех миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF, а также изучение антиаддиктивного действия соединения-лидера.

В задачи входила разработка и валидация методики количественного определения соединения-лидера в образцах крови и головного мозга крыс и эндогенных метаболитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС), а также определение фармакокинетических параметров соединения-лидера. Для решения этих задач автор использовал современные адекватные экспериментальные методы исследования. Цель и задачи четко сформулированы, логичны и понятны.

В работе представлен значительный объем данных экспериментальных исследований на разных видах и линиях лабораторных животных. Результаты обработаны современными статистическими методами, что не вызывает

сомнения в их достоверности. Заключение и обоснованные выводы диссертации свидетельствуют о достижении поставленных цели и задач.

Новизна исследования и полученных результатов

Новизна диссертационного исследования заключается в выявлении и экспериментальной верификации новых механизмов, регулируемых BDNF, а также в разработке моделей, позволяющих лучше понять молекулярное взаимодействие в нейрональных системах. Получены новые данные о влиянии BDNF на сигнальные каскады и их роль в нейротрофической регуляции.

В работе впервые изучена анксиолитическая и антиаддиктивная активности низкомолекулярных миметиков BDNF. Впервые показано, что противотревожный эффект миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 реализуется независимо от классической активации TrkB-рецепторов и MAPK/ERK сигнального каскада, что отличает его от других низкомолекулярных миметиков BDNF.

Впервые доказана возможность фармакологической регуляции сформированной алкогольной зависимости с помощью низкомолекулярного дипептидного миметика 2-й петли BDNF ГТС-201, а также установлены гендерные различия выявленного антиаддиктивного эффекта.

Впервые на нейрохимическом уровне установлено, что ГТС-201 увеличивает синтез серотонина и дофамина в головном мозге, что, вероятно, лежит в основе его анксиолитического действия и подтверждает возможность дивергенции функций нейротрофинов с помощью миметиков отдельных петель.

Впервые в экспериментах на животных изучена фармакокинетика ГТС-201 и на большом экспериментальном материале доказана его способность проникать через ГЭБ в головной мозг, обеспечивая длительный терапевтический эффект.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость результатов работы состоит в их практической применимости: они создают научную основу для разработки новых терапевтических подходов и биомаркеров, пригодных для использования в клинической диагностике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Полученные результаты создают теоретическую основу для углубленного понимания роли низкомолекулярных миметиков BDNF в регуляции нейропластичности и эмоциональных состояний, что важно для развития фундаментальных исследований в области патогенеза тревожных и аддиктивных расстройств.

Сравнительный анализ нейрохимического действия димерных дипептидных миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF показал возможность направленного синтеза инновационных отечественных препаратов с заданными фармакологическими свойствами для терапии психоневрологических расстройств. Например, у ГТС-201 удалось редуцировать антидепрессивные

свойства при сохранении отчетливого анксиолитического и антиаддиктивного эффекта.

В работе предлагается методологическая основа создания адекватных экспериментальных моделей для скрининга новых низкомолекулярных миметиков BDNF на основе изучения их молекулярных механизмов действия. На примере ГТС-201 доказана возможность получения новых низкомолекулярных миметиков BDNF с улучшенными фармакокинетическими свойствами и возможностью системного (перорального) применения.

Валидация методов количественного определения ГТС-201, нейромедиаторов и метаболитов в биологических образцах с применением современных методов анализа (ВЭЖХ-МС/МС) позволяет рекомендовать разработанные методики для мониторинга эффективности и безопасности новых соединений из класса низкомолекулярных миметиков BDNF в доклинических испытаниях.

Полученные экспериментальные результаты позволили дать практические рекомендации по дальнейшему изучению миметика 2-й петли BDNF ГТС-201, в том числе, касающиеся оптимальных режимов введения, оценки половых различий и перспектив клинического применения при заболеваниях, связанных с нейродегенерацией, тревожностью и зависимостью.

Диссертационное исследование имеет высокую практическую значимость, заключающуюся в создании научной основы для разработки новых терапевтических подходов для использования в клинической диагностике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Это способствует интеграции фундаментальных знаний в медицинскую практику и фармакологию.

Личный вклад автора

Личный вклад автора выражается в самостоятельном проведении комплекса сложных экспериментальных работ, разработке оригинальных методик, анализе и интерпретации полученных данных. Автор показал высокий уровень профессионализма и научной самостоятельности, что подтверждает высокий научный потенциал и компетентность специалиста.

Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Результаты исследований Е.М. Григоревских могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в ведущих научных учреждениях, таких как «ФГБНУ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Институт физиологии РАН, Институт биоорганической химии РАН, а также в фармацевтических компаниях, занимающихся разработкой препаратов для лечения заболеваний нервной системы. Для дальнейшего развития темы целесообразно привлекать коллективы

федеральных исследовательских центров фундаментальной и трансляционной медицины, а также университетских научно-исследовательских лабораторий.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 4 научных статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 1 публикация – иная, 1 патент, 5 публикаций в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе, и свидетельствуют о высоком научном потенциале и признании исследования.

Автореферат

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

Общая характеристика работы

Диссертация изложена на 187 страницах машинописного текста, хорошо проиллюстрирована 18 таблицами и 28 рисунками. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы, включающей описание материалов и методов исследования, 3 глав результатов исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, перечня сокращений, 6 приложений. Список литературы содержит опубликованные в основном за последние 10 лет работы (всего 219 источников, из них 182 – зарубежных).

Диссертация логично выстроена, написана ясным литературным языком, легко читается. Недостатков в содержании и оформлении диссертации не выявлено.

Глубокий анализ литературы позволил определить, как основные преимущества и недостатки BDNF для лечения нейropsychических заболеваний, так и преимущества его низкомолекулярных миметиков, и перспективность их применения в медицине. Григорьевских Е.М. описывает степень разработанности темы исследования, исходя из гипотезы, согласно которой центральные фрагменты β -витков 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF являются основными фармакофорными сайтами нейротрофинов, поскольку эти фрагменты взаимодействуют с рецептором семейства тропомиозин-киназы B (TrkB). Данное предположение легло в основу направленного конструирования и синтеза димерных дипептидных миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF. Автором

показана на основе литературного анализа перспективность использования низкомолекулярных миметиков BDNF для лечения алкогольной аддикции, а также изучения зависимости фармакологических эффектов этих средств от механизма влияния на сигнальные пути.

В целом, обзор литературы является достаточно полным, он аргументирует необходимость проведения данного исследования и соответствует целям и задачам диссертации.

Автор показал свободное владение современными фармакологическими и фармакокинетическими методами, включая, такие высокотехнологичные, как ВЭЖХ-МС/МС, а также статистическим аппаратом для обработки данных. Проведенный автором анализ полученных экспериментальных результатов базируется на глубоком понимании фармакологии, молекулярной биологии и метаболомных изменений под действием BDNF и характеризует автора как сложившегося ученого, способного самостоятельно вести научное исследование, всесторонне анализировать экспериментальный материал, делать обоснованные выводы.

Можно согласиться с выводом автора о перспективности соединения ГТС-201 как уникального анксиолитического средства с отсутствием антидепрессивного эффекта вследствие особого механизма действия, который не зависит от активации TrkB-рецепторов и MAPK/ERK сигнального пути. Полученные результаты показывают с высокой долей вероятности, что механизм ГТС-201, очевидно, связан с увеличением синтеза серотонина и дофамина в головном мозге, снижением уровня кортизола, что, вероятно, и лежит в основе его анксиолитических и антиаддиктивных свойств. Открытый автором механизм действия ГТС-201 подтверждает гипотезу о возможности дивергенции функций нейротрофинов с помощью низкомолекулярных миметиков отдельных петлеобразных структур, с чем можно согласиться.

При сравнительной оценке анксиолитического действия низкомолекулярных миметиков разных петель BDNF Григоревских Е.М. убедительно показано, что миметики 2-й (ГТС-201) и 4-й (ГСБ-106) петель обладают анксиолитической активностью. С выводом, что более сильный анксиолитический эффект ГСБ-106 связан с активацией пострецепторных сигнальных путей MAPK/ERK1/2 и PI3K/AKT, также можно согласиться.

Особый интерес представляет факт гендерных отличий в уменьшении алкогольной мотивации ГТС-201 по тесту снижения спонтанной двигательной активности у самок с выраженной алкогольной зависимостью без проявления психостимулирующих свойств или потенцирования эффекта алкоголя, что выгодно его отличает от ряда средств с депримирующим действием на ЦНС (транквилизаторов, снотворных, седативных и др.), применяемых в комплексных схемах лечения алкоголизма.

Открытая автором способность ГТС-201 быстро всасываться, проходить ГЭБ и при этом иметь значительный период полувыведения из мозга убедительно показывает фармакокинетические преимущества этого соединения перед нативным белком BDNF.

По мнению автора, низкомолекулярный миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 представляет интерес для дальнейшего изучения с учетом половых и возрастных различий в эффектах с целью разработки отечественного препарата с анксиолитическим и антиаддиктивным действием.

Методы используемого статистического анализа адекватны характеру распределения данных в выборках животных. Полученные результаты статистически значимы, обоснованы и не вызывают сомнения.

Выводы вытекают из результатов исследования и обсуждения данных и соответствуют цели и задачам исследования.

В целом диссертация представляет собой законченную самостоятельную научно-квалификационную работу с значительным научным и практическим вкладом.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования возникли некоторые замечания и вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. В работе не приведены данные по острой токсичности, LD₅₀, ED₅₀ и терапевтическом индексе низкомолекулярных миметиков BDNF.

2. Как вы можете обосновать выбор дозы 5 мг/кг для ГТС-201, постоянно использованной в работе для изучения анксиолитического и антиаддиктивного действия при однократном и субхроническом введении?

3. Автором показано, что основными значимыми наблюдаемыми различиями (соединение ГТС-201) было повышение концентрации серотонина и дофамина в головном мозге, а также уровня кортизола в крови. Как тогда объяснить отсутствие антидепрессивного и психостимулирующего действия ГТС-201?

Все приведенные вопросы и замечания не снижают значимость работы и сформулированы в плане дискуссии.

Заключение

Диссертация Григоревских Екатерины Михайловны на тему «Экспериментальное изучение нейрорепродуктивных свойств низкомолекулярных миметиков мозгового нейротрофического фактора», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология и 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является законченной, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области фармакологии, клинической фармакологии и фармацевтической химии, состоящей в разработке и изучении фармакологических свойств оригинальных отечественных соединений с нейрорепродуктивным действием, что имеет большое значение для фармакологии,

