В Диссертационный совет МГУ.03.06
при Биологическом факультете
МГУ имени М.В.Ломоносова

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Павшинцева Всеволода Вячеславовича «ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ И ПАРКИНСОНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ, ВЫЗВАННОГО ВВЕДЕНИЕМ ПРОТОКСИНА МФТП, НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет МГУ.03.06 по специальности 03.03.01– физиология.

Актуальность темы выполненной работы

На данный момент в неврологии практически не существует медикаментозных средств, позволяющих полностью излечивать больных, страдающих нейродегенеративными расстройствами различного генеза. Основные методы лечения связаны с комбинированной симптоматической, поддерживающей терапией и далеко не всегда, к сожалению, эффективны. В этой связи разработка новых патогенетически обоснованных методов профилактики и лечения нейродегенерации несомненно актуальна.

Известно, что важным звеном патогенеза нейродегенеративных заболеваний при токсических и ишемических повреждениях является нарушение работы митохондрий в клетках глии и нейронах, приводящее к накоплению активных форм кислорода. Основываясь на этих данных, авторы диссертации логично предположили, что использование адресного, митохондриально направленного антиоксиданта SkQ1 может стать эффективным фармакологическим средством нейропротекции.

В этой связи возникли две непростые задачи – отработать поведенческие модели токсического и ишемического повреждения ЦНС и доказать эффективность антиоксиданта SkQ1 в данных моделях. Решению этих задач фактически и посвящена диссертация Всеволода Вячеславовича Павшинцева.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа В.В.Павшинцева построена по традиционному плану, изложена на 149 страницах, состоит из введения, обзора литературы, глав, описывающих материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключения, выводов и списка

цитируемой литературы – 193 источника. Работа великолепно иллюстрирована, содержит 52 рисунка и 3 таблицы. Цели, задачи, научная и практическая значимость описаны во введении.

В обзоре литературы автор описывает современное состояние вопроса. Следует сказать, что литобзор – не самая удачная часть диссертации и представляет собой некое лоскутное одеяло из 10 глав. После двух-трех прочтений можно увидеть, что здесь переплетены три основные темы – патофизиология болезни Паркинсона и ишемии/реперфузии, моделирование этих состояний и, наконец, биохимия активных формы кислорода и антиоксидантов. По-видимому, пытаясь разложить по полочкам сложную мультидисциплинарную информацию, диссертант излишне раздробил и «раскидал» массив данных, что усложнило их восприятие. В обзоре упоминаются 176 статей зарубежных авторов и всего лишь 17 отечественных. В этой связи, вызывает сожаление отсутствие каких-либо упоминаний о работах группы Георгия Николаевича Крыжановского, посвященных МФТП-депрессивному синдрому, а это, на мой взгляд, помогло бы Всеволоду Вячеславовичу в трактовке полученных им результатов. Тем не менее, вся необходимая информация в обзоре представлена и наглядно обосновывает экспериментальную часть работы.

Материалы и методы изложены достаточно подробно, их описание позволяет повторить используемые в работе методики другими исследователями. Поражает широкий набор использованных в работе методик – от различных поведенческих тестов до гистологических, иммуногистохимических и биохимических методов. При прочтении возникает несколько замечаний и вопросов. При обосновании выбора концентрации SkQ1 автор ссылается на прежние работы, не приводя при этом никаких ссылок. Не указан источник получения пронейротоксина МФТП. Обоснованность и достоверность полученных автором данных не вызывает сомнения, кроме данных по «общей дистанции», пройденной рыбами в аквариумной установке «Открытое поле». Дело в том, что видеокамерой фиксировались передвижения рыб в двухмерной передней плоскости аквариума, а для чистоты эксперимента необходимо было бы оценивать перемещение в трехмерной среде, учитывая 10 см глубину установки. Не понятна логика эксперимента, когда эффект МФТП на поведение рыб в открытом поле оценивали через 20 минут после введения, а эффект на грануляцию пигмента в меланоцитах только через сутки.

Что касается моделирования паркинсоноподобного состояния на грызунах, то здесь диссертант вполне удачно и профессионально воспроизвел схемы, опубликованные ранее в зарубежной литературе. Замечаний по методике проведения поведенческих тестов на мышах и крысах нет. В поведенческих экспериментах были использованы выборки

животных, достаточные для получения достоверных результатов. Описание результатов выполнено скрупулезно, данные наглядно оформлены и представлены. Обсчет данных проводился на должном методическом уровне. Настоящим украшением работы является ее часть, посвященная биохимическому и гистологическому доказательству эффективности антиоксиданта SkQ1 при МФТП-токсическом поражении ЦНС. Все четко, красиво и логично.

Эффективность антиоксиданта на модели ишемии/реперфузии у крыс, проведенной с помощью хирургического вмешательства, доказывается с помощью последующих поведенческих экспериментов в ПКЛ и иммуногистохимического анализа экспрессии глиального нейротрофического фактора GDNF в клетках Пуркинье мозжечка. Однако возникает вопрос – насколько оправданы поведенческие эксперименты всего лишь через 4-5 суток после полостной операции? На каком основании выбраны эти временные интервалы? Не следовало бы дать животным больше времени для восстановления?

Раздел «Обсуждение результатов» написан интересно и аргументировано. Проводится сопоставление данных собственных экспериментов с данными, описанными в литературе. В тексте обсуждения есть досадная нестыковка. Так, автор утверждает (стр.120), что «применение SkQ1 на фоне МФТП увеличивало уровень тревожности мышей». На самом деле в работе установлено повышение общей дистанции (рис.24), снижение времени замирания (т.е. снижение стрессовой фризинг-реакции, рис.25) и увеличение количества стоек (рост исследовательского поведения, рис.26), что для мышей линии C57Bl/6 можно рассматривать как анксиолитическое или даже психостимулирующее действие. В остальном, все абсолютно логично.

После окончательного знакомства с диссертацией В.В.Павшинцева стало понятным, что название не совсем удачно и далеко от ее сути, поскольку непосредственно активные формы кислорода в работе не оценивались и не измерялись.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе успешно воспроизведена модель паркинсоноподобного состояния у рыб и мышей. Впервые показана способность антиоксиданта SkQ1 корректировать проявления паркинсоноподобного синдрома. Установлено, что введение SkQ1 на фоне нейротоксина МФТП частично компенсирует нарушения, вызванные токсином в обеих тест-системах. Это впервые подтверждено биохимическими и гистологическими методами. Успешно применена модель ишемии/реперфузии у крысах. Впервые на модели ишемии-реперфузии у крыс показана эффективность курсового введения SkQ1, связанной с увеличением

экспрессии глиального нейротрофического фактора GDNF в клетках Пуркинье мозжечка. Повышение экспрессии данного фактора, предположительно, является одним из механизмов обнаруженной нейропротекторной активности SkQ1. Полученные в диссертации данные обосновывают возможность применения митохондриально направленного антиоксиданта SkQ1 в комплексной терапии нейродегенеративных заболеваний различной этиологии, от токсической до ишемической.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость работы состоит в подтверждении и значительном расширении данных о нейробиологических и нейрохимических основах нейродегенеративных заболеваний. Полученные данные свидетельствует о некой общности механизмов дезорганизации работы ЦНС, вызванных разными по механизму действия факторами – токсинами и ишемией. Установлена вовлеченность дофаминергической системы в наблюдаемые состояния. Полученные результаты позволяют значительно расширить представления о возможном клиническом применении митохондриально направленного антиоксиданта SkQ1 в неврологии. Отработанные автором поведенческие модели паркинсоноподобного состояния, особенно экономичная модель на рыбах, могут найти широкое применение в скрининге лекарственных препаратов.

Таким образом, актуальность и новизна, полученных диссертантом данных, их теоретическая и практическая значимость очевидны.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

Представленные в работе результаты достоверны, сделанные выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Представленные в автореферате и публикациях В.В.Павшинцева результаты полностью отражают проведенные исследования. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет, а указанные погрешности могут быть учтены диссертантом в дальнейшем и не оказывают существенного влияния на общую положительную оценку представленной диссертации. Работа хорошо структурирована и логична. Результаты изложены в 4 научных публикациях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Отдельные аспекты работы изложены в тезисах и обсуждены на 7 российских и международных конференциях.

Заключение

Диссертационная работы Павшинцева Всеволода Вячеславовича «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной и актуальной задачи, доказывающей биологическую эффективность антиоксиданта SkQ1 в качестве нейропротектора. Результаты исследования имеют большое значение для физиологии, патофизиологии и медицины.

По актуальности, научной новизне и практической значимости работа соответствует критериям пункта 2 положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном Университете имени М.В.Ломоносова, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

Ведущий научный сотрудник
ФГБНУ Научный центр психического здоровья
д.б.н. О.Ю.Соколов

«Подпись заверяю»
Ученый секретарь ФГБНУ Научный центр психического здоровья
д.м.н. А.Н.Бархатова

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Павшинцева Всеволода Вячеславовича: «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях»

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

ФИО оппонента: Соколов Олег Юрьевич

Год рождения: 1967 г.

Гражданство: Российская Федерация

Учёная степень и отрасль науки: доктор биологических наук, 03.03.01 – физиология

Полное название организации, являющейся основным местом работы оппонента:

ФГБНУ Научный центр психического здоровья

Занимаемая должность: ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии

Почтовый адрес: индекс 115522, Москва, Каширское шоссе,34

Телефон: 903-535-95-26

Адрес электронной почты: oleg-sokolov@yandex.ru

Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за 5 лет

1. Zolotarev Y.A, Kovalev G.I., Kost N.V., Voevodina M.E., Sokolov O.Y., Dadayan A.K., Kondrakhin E.A., Vasileva E.V., Bogachuk A.P., Azev V. N., Lipkin V.M. Myasoedov N.F. Anxiolytic activity of the neuroprotective peptide HLDF-6 and its effects on brain neurotransmitter systems in BALB/c and C57BL/6 mice // Journal of Psychopharmacology – 2016 - 30(9):922-935.

2.Yakovleva A.A., Zolotov N.N., Sokolov O.Y., Kost N.V., Kolyasnikova K.N., Micheeva I.G. Dipeptidylpeptidase 4 (DPP4, CD26) activity in the blood serum of term and preterm neonates with cerebral ischemia // Neuropeptides - 2015 - 52:113-7

3. Медведев В.Э., Терещенко О.Н., Кост Н.В., Тер-Исраелян А.Ю., Гушанская Е.В., Чобану И.К., Соколов О.Ю., Мясоедов Н.Ф. Оптимизация терапии тревожных расстройств пептидным препаратом селанк // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова – 2015 - Т. 115. № 6. С. 33-40

4. Золотарев Ю.А., Дадаян А.К., Кост Н.В., Воеводина М.Э., Соколов О.Ю., Козик В.С., Шрам С.И., Азев В.Н., Бочаров Э.В., Богачук А.П., Липкин В.М., Мясоедов Н.Ф. Количественный анализ пептида HLDF-6-амида и его метаболитов в тканях лабораторных

животных с использованием их меченных тритием и дейтерием производных // Биоорг. Химия – 2015 - 41 (6): 644-656.

5. Sokolov O., Kost N., Andreeva O., Korneeva E, Meshavkin V, Tarakanova Y, Dadayan A, Zolotarev Y, Grachev S, Mikheeva I, Varlamov O, Zozulya A. Autistic children display elevated urine levels of bovine casomorphin-7 immunoreactivity. Peptides. 2014 Jun;56:68-71. doi: 10.1016/j.peptides.2014.03.007.

6. Кост Н.В., Мешавкин В.К., Хашаба Е.Ю., Соколов О.Ю., Воеводина М.Э., Золотарев Ю.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Нейротензинподобные пептиды как потенциальные антипсихотики: влияние на серотониновую систему. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 157. № 6. С. 707-711

7. Медведев В. Э., Терещенко О. Н., Исраелян А. Ю., Чобану И. К., Кост Н. В., Соколов О. Ю., Мясоедов Н. Ф. Сравнение анксиолитического эффекта и переносимости селанка и феназепама при терапии тревожных расстройств // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова – 2014 - 114(7): 17-22.

Официальный оппонент
д.б.н. О.Ю.Соколов

(подпись)

Ученый секретарь ФГБНУ Научный центр психического здоровья

д.м.н. А.Н.Бархатова

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Павшинцева Всеволода Вячеславовича, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему: «ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ И ПАРКИНСОНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ, ВЫЗВАННОГО ВВЕДЕНИЕМ ПРОТОКСИНА МФТП, НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ» по специальности 03.03.01 – физиология

Исследованию физиологических процессов возникновения и развития нейродегенеративных заболеваний человека посвящены многочисленные работы, как клинические, так и экспериментальные. Эти медленно протекающие патологические процессы, провоцирующие поражение многих систем ЦНС, с большим или меньшим успехом моделируются в экспериментах на организмах разной степени сложности. Особое место в работах по «моделированию» нейродегенеративных заболеваний принадлежит поискам новых подходов к их терапии. Именно эта проблема лежит в основе экспериментального подхода, принятого автором - В.В. Павшинцевым - при выполнении диссертационной работы.

Исследователи биохимических основ патофизиологических процессов пытаются выявить, в частности, и роль митохондрий, поскольку их роль в обеспечении жизнедеятельности клетки трудно переоценить. В работе Павшинцева был использован активно разрабатывающийся новый подход обеспечения нейропротекции – непосредственное воздействие на мембраны митохондрий с целью модуляции оксидативного стресса. Иными словами, были проанализированы эффекты высокоактивного антиоксиданта - бромид пластохинонил-децил-трифенил-фосфония (ПДТФ) или SkQ1, т.е. агента, обладающего прицельным действием на функцию митохондрий.

Для оценки физиологических эффектов этого соединения, точнее, для выявления его возможных нейропротекторных свойств, автору было необходимо выбрать экспериментальные модели, работа с которыми могла бы быстро и надежно выявить эффективность действия SkQ1. Такими моделями стали 1) воспроизведение симптоматики болезни Паркинсона на рыбках Brachydanio rerio и на лабораторных мышах инбредной линии, а также 2) модель патологических изменений в мозге, вызванных сублетальной механической остановкой кровотока у крыс Wistar.

Таким образом, целью исследования автора стало изучение эффектов митохондриального антиоксиданта SkQ1 на симптомы паркинсоноподобного состояния и биохимические показатели лабораторных рыб Brachydanio rerio и мышей линии C57BL/6 и крыс на фоне развития патологии мозга.

Такие цели определили и задачи исследования, в число которых входила «доработка» моделирования симптомов болезни Паркинсона на животных двух

видов (воздействие протоксина МФТП), а также получение надежной модели нарушений мозгового кровообращения на крысах. Успешное выполнение этих задач позволили автору провести собственно поисковые исследования – оценить эффективность SkQ1 для коррекции нарушенных функций ЦНС, характерных для указанных моделей. Следует сразу отметить, что в ходе выполнения диссертационной работы эти задачи были успешно решены.

Работа является реальным вкладом в решение общей задачи поиска конкретных мишеней для возможных терапевтических воздействий и при болезни Паркинсона, и при нарушениях, вызванных ишемией головного мозга. Это означает, что исследование, проведенное В.В. Павшинцевым, является актуальным и практически важным.

В теоретическом плане данное исследование также важно. Дисфункция митохондрий сопровождает очень многие заболевания, в том числе и нейродегенеративные состояния. В связи с этим очевидна важность экспериментальных данных, указывающих на роль активных форм кислорода в их развитии, а также на возможные пути коррекции функции органелл клетки, при этом страдающих. Поскольку строение молекулы SkQ1 позволяет ей встраиваться во внутреннюю мембрану митохондрий и нейтрализовать избыток молекул – активных форм кислорода, то полученные автором данные - это четкое указание на перспективность использования данного агента для коррекции как минимум некоторых форм патологии мозга. Это есть свидетельства новизны данного исследования и больших возможностей развития этого направления работ.

Диссертация состоит из следующих традиционных разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы исследования, Результаты, Обсуждение результатов, Заключение, Выводы и Список цитированной литературы. Работа изложена на 149 страницах, иллюстрирована 52 рисунками и 3 таблицами. Список цитируемой литературы включает193 наименования

В традиционном введении автор лаконично излагает постановку вопроса и заявляет о важности исследования эффектов SkQ1, поскольку такой метод основан на непосредственном влиянии на мембраны митохондрий, в частности в областях мозга, пораженных заболеванием. Раздел написан четко и логично. Логично было бы в этом разделе дать и описание принципа «устройства» молекулы SkQ-1 и предполагаемого механизма ее действия, которые хорошо и подробно помещены почему-то в методическом разделе.

Раздел Обзор литературы по теме диссертации содержит 10 параграфов, в которых последовательно описываются важные для темы работы. Поскольку данные по активным формам кислорода и по оксидативному стрессу многочисленны и идут непрерывным потоком не одно десятилетие, их обзор потребовал от автора быть кратким. Эта часть обзора действительно невелика, но весьма информативна, т.е. автор успешно справился с такой нелегкой задачей. Далее рассматриваются данные по изменениям в ткани мозга при ишемии-реперфузии и при болезни Паркинсона. Особенности статуса глиальной ткани при этих заболеваниях описаны главным образом на примере системы GDNF, что достаточно оправдано, поскольку это соединение – часть мощной

антиоксидантной системы (а также в силу большого числа исследований этих механизмов).

Работы с использованием лабораторных моделей, которые были предметом анализа в диссертации (моделирование симптомов БП на *Brachydanio rerio* и на мышах путем воздействия МПТП и ишемия-реперфузия) освещены в работе достаточно детально и позволяют читателю легко ориентироваться в этом информационном поле.

Для логического изложения данных о патогенезе и терапии болезни Паркинсона, необходимо привлечение информации по биохимии развития патологии дофаминергической системы мозга, с чем автор также успешно справился, как и с описанием использования антиоксидантов в коррекции повреждений нервной ткани при избытке АФК. Специальные разделы обзора посвящены эффектам «митохондриально-направленных» антиоксидантов, которые используют, в частности, при терапии нейродегенеративных заболеваний. В целом можно дать положительную оценку содержанию этой части диссертации, поскольку обзор литературы демонстрирует хорошее владение автором этими данными.

Очевидно, что поиск антиоксидантов, направленных на нейтрализацию АФК в нейронах, которые предотвращали бы или снижали окислительный стресс, это перспективное направление в лечении нейродегенеративных заболеваний. Данное заключение - хорошее введение в изложение собственной работы автора.

Раздел Материалы и методы исследования написан четко и достаточно подробно. Описаны 4 этапа исследования: 1) формирование симптомов паркинсоподобного состояния у рыб с помощью МФТП и анализ поведения этих животных; 2) Изучение влияния курсового введения SkQ1 мышам также на фоне развития БП после индуцирующего влияния МФТП, а также 3) оценка эффектов предварительного курсового введения SkQ1 мышам на развитие этого состояния; 4) моделирование симптомов ишемии-реперфузии путем кратковременной остановки сердца у крыс с оценкой эффектов курсового введения SkQ1. Поскольку полиморфизм в размерах животных и в их поведении – это повсеместный биологический феномен, свойственный, в частности, грызунам, автор выравнивал состав групп животных (экспериментальных и контрольных) путем предварительного тестирования их в Т-образном лабиринте, что следует отметить как положительный момент работы. Подробно описаны сложные схемы экспериментов, способы и режим введения МФТП и SkQ1.

Замечанием к данному разделу работы может быть недостаточно четко описанное различие в схеме двух экспериментов с мышами, тем более что остается неясным, как эти два эксперимента представлены в иллюстрациях. Кроме того, в этом разделе нет описания теста Порсолта (фамилия автора – склоняется!).

Результаты проведенных экспериментов показали, что введение МФТП снижало скорость передвижения рыб, что сказалось и на пройденной за время теста «дистанции», тогда как инкубация таких животных в воде с SkQ1 дала показатели, сопоставимые с интактными животными. «Зеркальные» различия были показаны для времени замирания и числа соответствующих эпизодов.

Оказалось также, что время пребывания рыбок у дна аквариума, как индикатор испуга животного, было увеличено под действием одного SkQ1, что автор трактует как прямое влияние SkQ1 на поведение. Этот феномен, несомненно, должен стать предметом специальных экспериментов. Было также отмечено характерное для МФТП действие – ослабление пигментации кожных покровов рыб, причем эти, казалось бы «качественные» наблюдения автор смог проанализировать статистически.

В экспериментах на мышах были также получены четкие признаки развития подобной БП неврологической патологии под влиянием МФТП и «корректирующее» влияние SkQ1 на целых ряд появившихся у животных аномальных признаков.

Подробно описаны наблюдавшиеся различия в поведении мышей в тесте ПКЛ и «открытое поле». Эти данные автор, естественно, трактует, опираясь на устоявшееся мнение об изменениях поведения в этих тестах как показателях изменения общей активности, тревожности и др. Для общей оценки первых результатов, которые были получены в этой работе, это, видимо, правильно и оправданно. Однако в настоящее время у исследователей появились некоторые сомнения в адекватности такой простой трактовки подобных данных. Тревожность, обнаруживаемая животными в тесте «открытое поле», может быть неидентична состоянию, которое у него развивается в ПКЛ (несовпадение показателей этих тестов обнаруживается в большом числе исследований). Это означает, что оценка изменений поведения мышей при развитии симптомов БП и под влиянием SkQ1 должна базироваться на большем числе тестов. В данном исследовании следовало бы также обратить внимание на возможность изменений зрения у мышей экспериментальных групп, поскольку действие МФТП могло затронуть и дофаминергические нейроны сетчатки. Следует также отметить, что выполнение животным вертикальных стоек неверно относить к поведению «риска», поскольку это и показатель исследовательской активности животного, и индикатор его общей возбудимости.

В то же время очевидно, что наиболее информативным для оценки результатов формирования модельной патологии и терапевтического эффекта препарата был тест «сужающаяся дорожка», данные которого заслуживали бы более подробного обсуждения и сопоставления с данными литературы. Использование этого теста – несомненная удача работы.

Положительным моментом работы является то, что автор критически оценивает значимость полученных результатов. Это можно видеть на примере обсуждения данных теста «ротарод», в котором тестируют именно координацию движений животного. Отсутствие различий между группами по показателям этого теста, по всей видимости, правильно (как это делает автор) отнести за счет «ускользания» эффектов МФТП, что автор сопоставляет со сведениями из литературы.

Следует отметить также еще одно важное соображение. Патология дофаминергической системы напрямую связана с развитием каталептоидного состояния у мышей и крыс. Особенности реакции замирания, полученные автором у мышей разных групп, наводят на мысль о необходимости

«прицельного» анализа каталептических реакций у животных после введения МФТП и при терапевтическом влиянии антиоксиданта. Адекватным тестом для такого исследования может быть так называемая «щипковая каталепсия», подробно исследованная в работах д.б.н. А.В. Куликова (ИЦиГ СО РАН).

Биохимический анализ состояния дофаминергической системы мозга мышей исследованных групп четко продемонстрировал «ожидаемые» отклонения в ее состоянии и позволил достаточно наглядно увидеть эффекты введения антиоксиданта. Четко продемонстрировано, что введение SkQ1 отдельно (500 нмоль/кг) без МФТП не приводило к изменению отношения ДОФУК/ДА, что может говорить об отсутствии собственного повреждающего действия у данного антиоксиданта при курсовом введении его достаточно высокой дозы.

Иммуногистохимический метод позволил продемонстрировать меньшую площадь среза, «занимаемую прореагировавшим с тирозингидроксилазой материалом» в черной субстанции и вентральной области покрышки среднего мозга мышей после воздействия МФТП, а также «позитивный» эффект при использовании сочетания протоксина и антиоксиданта. Эти результаты хорошо проиллюстрированы микрофотографиями.

Описание отдельно стоящей серии экспериментов с крысами по эффектам ишемии-реперфузии и терапевтическому влиянию SKQ1 на последствия такого вмешательства является последней в описании полученных данных, но очень интересной и информативной. Влияние антиоксидантта на последствия ишемии мозга в этом варианте моделирования патологии ЦНС было четко продемонстрировано, а результаты адекватно представлены в диссертации. В этой серии экспериментов была также проведена количественная оценка плотности клеток в полях гиппокампа, а также нейронов слоя клеток Пуркинье мозжечка. Развитие патологических процессов в мозге отразилось на падении числа клеточных элементов в поле CA1 и CA4 гиппокампа, однако эффект введения антиоксиданта положительно сказался только на состоянии поля CA4. Это интересное наблюдение, несомненно, требует дальнейшего более подробного анализа и может отражать разную степень поражения при ишемии нейронов разных категорий и, конечно, клеток глии. Количественная оценка слоя клеток Пуркинье мозжечка также показала как их деструкцию вследствие ишемии, так и положительное влияние SkQ1. Однако в специальных экспериментах эти данные были дополнены оценкой уровня экспрессии GDNF в этих клетках. Оказалось, что после ишемии снижается число нейронов, не экспрессирующих данный фактор (что предполагает их гибель), тогда как применение антиоксиданта дает противоположный эффект. Автор достаточно осторожен в оценке значимости этого эффекта, но полагает, что повышение экспрессии GDNF, предположительно, может быть одним из механизмов нейропротекторной эффективности SkQ1. Этот феномен также нуждается в проведении дополнительных исследований.

В разделе «Обсуждение результатов» автор показывает, что полученные на использованных моделях «знаки» патологических процессов в мозге действительно описаны и другими авторами, что позволяет ему с большей уверенностью говорить и о терапевтическом эффекте использованного

антиоксиданта, и о сходстве генеза БП и последствий ишемии. Он полагает, что ключевым этапом в развитии патологии этих двух типов является именно участие активных форм кислорода, которые образуются в митохондриях.

Автор анализирует возможную роль GDNF в реализации защитного эффекта SkQ1 и достаточно аргументированно утверждает, что индукция экспрессии этого нейротрофина может быть основой эффекта антиоксиданта. Следует только заметить, что в этих рассуждениях речь должна идти не только о собственно нейронах, но и о клетках глии.

Выводы из проделанной работы сформулированы четко и не вызывают замечаний.

Таким образом, получение экспериментальных данных об эффективности «митохондриально направленного» антиоксиданта на развитие симптомов, воспроизводящих признаки болезни Паркинсона, а также на последствия ишемии мозга, это важное достижение диссертанта. Важным моментом итогового рассмотрения данных является вывод о сходстве определенных этапов формирования этих патологических состояний, что открывает путь для выдвижения новых, доступных экспериментальной проверке гипотез механизмов их развития. Важным аспектом исследования могло бы стать сопоставление данных по изменениям в поведении мышей и крыс при действии вредящих факторов и комбинации их действия с антиоксидантом SkQ1 у животных, содержащихся не в «spf» условиях. Это было бы тем более интересно, что и состав кишечной биоты (имеющий иногда прямое действие на мозг), и состояние иммунной системы у конвенциональных и «spf» животных различаются. Надо надеяться, что при продолжении данного исследования этот вопрос будет проанализирован.

Разумеется, работа В.В. Павшинцева не свободна от недостатков, часть которых была уже упомянута выше. Следует отметить наличие очень большого числа опечаток, пунктуационных ошибок и ошибок согласования, а также использование таких слов и выражений, как: «схожесть», «целью данного исследования является изучение…», «нейрональная гибель пирамидных нейронов», «исследуемый метод», «…у мышей забирали стриатум…», «нейроны нигростриатума», «количество поведений риска». Это заставляет пожелать автору большей внимательности при подготовке текста. Еще один недостаток, часто встречающийся в русскоязычной биологической литературе, это крайне неудачное выражение «животные модели». Эта, неправильная с точки зрения не только семантики, но и здравого смысла, «калька» с английского «animal model» не должна использоваться ни в повседневной речи, ни в научных текстах.

Оценивая работу В.В. Павшинцева, следует заключить, что это законченное, квалифицированное, современное, важное в практическом отношении исследование, которое полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа содержит четкий экспериментальный материал, параллельно полученный на трех видах животных, а обсуждение полученных данных и интерпретация результатов свидетельствуют о зрелости автора, как научного работника. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Сказанное выше позволяет заключить, что работа В.В. Павшинцева «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 физиология, полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, соответствует критериям пункта 2 положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а автор, В.В. Павшинцев, заслуживает присуждения искомой степени.

Ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

доктор биологических наук Полетаева И.И.

ПОДПИСЬ РУКИ Полетаевой И.И.
ЗАВЕРЯЮ
Документовед биологического факультета МГУ

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Павшинцева Всеволода Вячеславовича: «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях»

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

ФИО оппонента: Полетаева Инга Игоревна

Год рождения: 1939

Гражданство: Российская Федерация

Учёная степень и отрасль науки: доктор биологических наук, специальность физиология

Полное название организации, являющейся основным местом работы оппонента:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет

Занимаемая должность: ведущий научный сотрудник

Почтовый адрес: индекс 119992 Ленинские горы, 1, строение 12

Телефон: 84959394468

Адрес электронной почты ingapoletaeva@mail.ru

Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за 5 лет

1. Федотова И.Б., Николаев Г.М., Костына З.А., Полетаева И.И.**2017** Отдаленные эффекты краткой гипертермии в неонатальный период у крыс линии Крушинского–Молодкиной, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии // *Доклады Академии наук* – 2017 - том 472, № 1, с. 1-3
2. Solius G.M., Revishchin A.V., Pavlova G.V., Poletaeva I.I. Audiogenic epilepsy and GABAergic system of the colliculus inferior in Krushinsky-Molodkina rats // *Doklady Biochemistry and Biophysics*- 2016 - 466:32-34
3. García D.E., Poletaeva I.I., Garcia-Cairasco N. On the official release of the special issue of Epilepsy & Behavior - Genetic Models of the Epilepsies в журнале // *Epilepsy and Behavior* – 2016 – 58:131
4. Fedotova I.B., Surina N.M., Nikolaev G.M., Poletaeva I.I. Subthreshold Corazol Doses Induced Generalized Seizures in Audigenic Seizure-Prone Rats // *International Journal of Neurology and Brain Disorders* – 2016 – 3:1-6
5. Саркисова К.Ю., Федотова И.Б., Сурина Н.М., Николаев Г.М., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Влияние хронического введения флуоксетина на аудиогенную эпилепсию, тревожность и предрасположенность к депрессии у крыс разных генотипов // *Доклады Академии наук* - 2016 - 467(2):238-241

6. Полетаева И.И., Перепелкина О.В., Бояршинова О.С., Голибродо В.А., Лильп И.Г., Липп Х.П., Хи-Суп Шин Решение элементарных логических задач мышами с нокаутом гена натрий-кальциевого обменника-2 (ncx2) // *Доклады Академии наук*, издательство *Наука – 2016* – 469(3):375-378
7. Perepelkina O.V., Lilp I.G., Tarasova A.Yu., Golibrodo V.A., Poletaeva I.I. Changes in Cognitive Abilities of Laboratory Mice as a Result of Artificial Selection //*The Russian Journal of Cognitive Science* – 2015 -2:29-35
8. Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perepelkina O.V., Fedotova I.B. The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65 years // *Academic Press (United States)* - 2015
9. Перепелкина О.В., Голибродо В.А., Лильп И.Г., Полетаева И.И. Селекция мышей на высокие показатели решения элементарной логической задачи // *Доклады Академии наук* – 2015 – 460(5):617-621
10. Poletaeva I.I., Zorina Z.A. A Genetic Approach to the Study of Simple Cognitive Abilities in Animals // *The Russian Journal of Cognitive Science – 2014* – 1(3):31-55
11. Surina N.M., Ashapkin V.V., Merzalov I.B., Perepelkina O.V., Fedotova I.B., Pavlova G.V., Poletaeva I.I. Audiogenic seizure proneness after methyl-enriched diet in ontogeny // *Doklady Biological Sciences* – 2014 – 454:62–64
12. Poletaeva I.I., Surina N.M., Ashapkin V.V., Fedotova I.B., Merzalov I.B., Perepelkina O.V., Pavlova G.V. Maternal methyl-enriched diet in rat reduced the audiogenic seizure proneness in progeny // *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* – 2014 – 127:21-26
13. Perepelkina O.V., Golibrodo V.A., Lilp I.G., Poletaeva I.I. Selection of Laboratory Mice for the High Scores of Logic Task Solutions: The Correlated Changes in Behavior // *Advances in Bioscience and Biotehnology – 2014* – 5(4):294-300
14. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Лильп И.Г., Полетаева И.И. Поведение мышей, селектированных на когнитивный признак, в тесте на гипонеофагию // *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова* – 2014 - 6:639-645
15. Сурина Н.М., Ашапкин В.В., Мерцалов И.Б., Перепелкина О.В., Федотова И.Б., Павлова Г.В., Полетаева И.И. Предрасположенность крыс к аудиогенной эпилепсии после содержания на метилобогащенной диете в период развития // *Доклады Академии наук* – 2014 - 454(5):615-617

Официальный оппонент _____ Полетаева И.И.

(подпись)

ПОДПИСЬ Полетаевой И.И.
ЗАВЕРЯЮ
Документовед биологического факультета МГУ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Павшинцева Всеволода Вячеславовича «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет МГУ.03.06 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность диссертационного исследования. Исследование механизмов гибели нейронов при реперфузионном повреждении мозга и при нейродегенеративных (болезнь Паркинсона) заболеваниях является крайне актуальным в виду ежегодного увеличения числа таких больных, снижения среднего возраста заболевших и катастрофических последствий для самого больного в виде нарушения функций мозга, потери работоспособности, в дальнейшем – десоциализации. Такие больные требуют особого ухода, заботы, реабилитации. Для родственников и государства это дополнительные денежные и временные затраты, что определяет социальную значимость данных заболеваний. Поэтому экспериментальные исследования, позволяющие определить новые мишени терапевтического воздействия, являются востребованными.

Диссертант сосредоточил свое внимание на роли дисфункции митохондрий и гиперпродукции активных форм кислорода в повреждении структур мозга при ишемии-реперфузии и при развитии паркинсоноподобных состояний на животных моделях. Впервые показано, что адресный антиоксидант SkQ1, проникающий и работающий во внутренней мембране митохондрий, оказывает защитное действие на дофаминэргические нейроны при моделировании паркинсоноподобных состояний у мышей и рыбок и на чувствительные к гипоксии нейроны при моделировании ишемии-реперфузии мозга остановкой сердца у крыс. Сохранность клеток, ферментативных систем, биосинтеза медиаторов,

увеличение продукции глиального нейротрофического фактора сопровождаются сохранностью поведенческой активности животных.

В целом, результатами своего исследования автор показал ведущую роль активных форм кислорода при развитии заболеваний данных групп и возможность их коррекции с помощью митохондриального антиоксиданта.

Оценка структуры и содержание диссертации. Диссертация Павшинцева В.В. написана на 149 страницах печатного текста, имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, заключения, выводов, списка литературы и списка публикаций. Диссертация характеризуется глубоким анализом собственных результатов и содержит 52 рисунка и 3 таблицы.

Введение. Во введении обоснована актуальность выполненного исследования, автором сформулированы цель и задачи, которые в ходе исследования решены.

Обзор литературы написан на основании глубокого анализа отечественной и зарубежной литературы, хорошо структурирован, изложен полно и ясно, не содержит избыточной информации. В обзоре автор четко следует принципам построения исследования.

Для решения поставленных задач автором были использованы современные методы исследований. В работе использованы три экспериментальные животные модели, две из них направлены на формирование паркинсоноподобных состояний у рыб Brachydanio rerio и мышей линии C57BL/6 путем внутрибрюшинного введения протоксина МФТП; одна формирует реперфузионное повреждение мозга после остановки сердца на 7 мин с последующей кардиореанимацией у крыс. Находкой данного исследования является использование адресного антиоксиданта SkQ1, химическая структура которого позволяет ему проникать во внутреннюю мембрану митохондрий, накапливаться и снижать уровень продукции активных форм кислорода митохондрией. Данный

подход является новым и, в отличие от применения системных антиоксидантов, описанных в литературе, демонстрирует устойчивый защитный эффект на нейроны во всех использованных моделях. Диссертант аргументированно утверждает, что дисфункция продукции активных форм кислорода митохондриями и ослабление антиоксидантной защиты клеток являются причинами повреждения дофаминэргических нейронов в паркинсоноподобных моделях и чувствительных к гипоксии нейронов при ишемии-реперфузии. В работе использован широкий набор микроскопических, молекулярно-биологических, биохимических методов и методов оценки поведенческих реакций, что делает работу комплексным многоуровневым исследованием, результаты которого хорошо верифицированы.

В главе «Результаты» диссертации хорошо изложены и проиллюстрированы результаты четырех этапов исследования. Показано, что введение адресного антиоксиданта SkQ1, как в профилактическом (до моделирования паркинсоноподоного состояния на мышах), так и в терапевтическом режиме (на фоне развития паркинсоноподоного состояния у мышей) оказывает нейропротекторный эффект, который проявляется в большей сохранности дофаминэргических нейронов, сбалансированности продукции дофамина, сохранности поведенческой активности. Этот результат является важным для возможного практического использования препарата на фоне развившихся признаков заболевания.

Нейропротекторный эффект адресного антиоксиданта SkQ1 при ишемии-реперфузии обусловлен общностью по крайне мере части механизмов развития повреждения нейронов в двух моделях, а именно увеличением продукции активных форм кислорода митохондриями. Этот результат является значимым для практического использования, поскольку реперфузионная терапия при ишемии мозга в настоящее время является приоритетной, методы защиты мозга от реперфузионного повреждения не разработаны.

В разделе «Заключение» автор суммирует полученный результаты. Формулировка выводов не строго соответствует цели и задачам, но по содержанию выводы строго отвечают поставленным задачам и соответствуют цели исследования.

Автореферат отражает основное содержание работы и замечаний не имеет. В представленной к защите работе Павшинцева В.В. соблюдены все требования к кандидатским диссертациям.

Степень обоснованности и достоверности основных положений и выводов. Полученные результаты, их обсуждение, заключение, выводы диссертации являются полностью обоснованными. Результаты, полученные в разных сериях экспериментов и различными методами, хорошо между собой согласуются. Автором показана эффективность применения адресного антиоксиданта SkQ1 в моделях паркинсоноподобного состояния у мышей и рыбок и в модели ишемии-реперфузии мозга на крысах.

Анализ новизны проведенных исследований. Диссертационная работа В.В. Павшинцева содержит новые научные результаты.

Автором впервые применен адресный антиоксидант SkQ1, накапливающийся и работающий в митохондриях для защиты мозга в моделях паркинсоноподобных состояний и при ишемии-реперфузии головного мозга крыс. Впервые показано, что адресный антиоксидант SkQ1 оказывает устойчивый нейропротекторный эффект в разных моделях паркинсоноподобных состояний, эффект реализуется через увеличение сохранности нейронов, продуцирующих дофамин, нормализацию продукции дофамина, компенсацию двигательных нарушений у животных при профилактическом и терапевтическом применении препарата.

В модели ишемии-реперфузии SkQ1 компенсирует тревожность и снимает сенсомоторный дефицит, а также приводит к увеличению продукции глиального нейротрофического фактора.

Научно-практическое значение.

Диссертационное исследование В.В. Павшинцева имеет научно-практическое значение.

В рамках настоящего исследования диссертантом использован адресный антиоксидант SkQ1, химическое строение которого позволяет высокоточно встраиваться во внутреннюю мембрану митохондрий и снижать продукцию активных форм кислорода путем возвращения части электронов в электронно-транспортную цепь. Этот подход можно использовать для анализа роли активных форм кислорода при различных физиологических и патофизиологических условиях в организме.

Результатами исследования показано, что адресное воздействие на митохондрии путем накопления во внутренней мембране антиоксиданта SkQ1 при заболеваниях, связанных с избыточной генерацией активных форм кислорода, дает устойчивый нейропротекторный эффект, что позволяет разрабатывать терапевтические подходы, направленные на коррекцию дисфункции митохондрий.

Уровень апробации результатов исследования. Результаты исследований неоднократно докладывались на международных научных конференциях, в том числе на конференциях студентов и молодых ученых, конгрессах РФ. По теме диссертации В.В Павшинцева опубликовано 9 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, соответствующих Перечню ВАК и Web of Science, и 5 докладов и сообщений в сборниках докладов научных конференций.

Общие замечания и вопросы по диссертации. Вопросы: 1. Способны ли другие мембраны внутриклеточных компартментов накапливать адресный антиоксидант SkQ1? Может ли это повлиять на антиоксидантные системы клетки? 2. Реперфузионное повреждение и нейродегенеративные заболевания сопровождаются развитием воспалительной реакции, будет ли адресный антиоксидант SkQ1 оказывать влияние на развитие повреждения при воспалении?

Заключение. Диссертационная работа В.В. Павшинцева «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях» по объему и степени достоверности полученных результатов, по научной новизне, актуальности, теоретической и практической значимости является научной квалификационной работой и соответствует критериям пункта 2 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а сам автор Павшинцев Всеволод Вячеславович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент:
доцент кафедры физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», кандидат биологических наук, (03.00.13- физиология человека и животных), доцент

Светлана Анатольевна Гаврилова

Подпись доцента Гавриловой С.А. подтверждаю.
Декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова, академик РАН

Всеволод Арсеньевич Ткачук

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет фундаментальной медицины.
Адрес: 119991 г. Москва, Ломоносовский пр-т., д. 27, корп. 1.
Тел.: (495) 932-99-82, Факс: (499) 726-55-47.
E-mail: sgavrilova@mail.ru.

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Павшинцева Всеволода Вячеславовича: «Изучение роли активных форм кислорода в патогенезе ишемии-реперфузии и паркинсоноподобного состояния, вызванного введением протоксина МФТП, на животных моделях»

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

ФИО оппонента: Гаврилова Светлана Анатольевна

Год рождения: 1966

Гражданство: Российская федерация

Учёная степень и отрасль науки: кандидат биологических наук, физиология

Полное название организации, являющейся основным местом работы оппонента: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, фундаментальной медицины

Занимаемая должность: доцент

Почтовый адрес: индекс 119602, Москва, Мичуринский проспект, Олимпийская деревня, д.14, кВ.71

Телефон: 89032839777

Адрес электронной почты: sgavrilova@mail.ru

Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за 5 лет:

1. Deryagin O. G., Gavrilova S. A., Gainutdinov Kh L.,Golubeva A. V., Andrianov V. V., Yafarova G. G., Buravkov S. V., and Koshelev V. B. Molecular bases of brain preconditioning // *Frontiers in Neuroscience, section Neuropharmacology* - 2017.
2. Zhdanov A. V., Dmitriev R. I., Golubeva A. V., Gavrilova S. A., Papkovsky D. B. Chronic hypoxia leads to a glycolytic phenotype and suppressed hif-2 signaling in pc12 cells // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* – 2013 - 1830:3553–3569
3. Дерягин О. Г., Гаврилова С. А., Буравков С. В., Андрианов В. В., Яфарова Г. Г., Гайнутдинов Х. Л., Кошелев В. Б. Роль АТФ-чувствительных калиевых каналов и оксида азота в защитном эффекте прекондиционирования мозга // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова* – 2016 - 116(2):16–22
4. Дерягин О. Г., Гаврилова С. А., Голубева А. В., Андрианов В. В., Яфарова Г. Г., Гайнутдинов Х. Л., Кошелев В. Б. Нейропротекция при ишемическом инсульте: роль АТФ-зависимых калиевых каналов и системы оксида азота // *Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им.В.А.Алмазова* – 2012 - (5):9–15

5. Кошелев В. Б., Гаврилова С. А., Фадюкова О. Е., Морозова М. П., Кулага Е. А., Андреева Л. А., Мясоедов Н. Ф. Нейропротекторные свойства пептидов семейства меланокортинов // *Фундаментальные науки – медицина* – 2013 – (1):371–374
6. Кулага Е. А., Гаврилова С. А., Буравков С. В., Кошелев В. Б. Динамика экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в коре головного мозга крыс и влияние препарата "Семакс" на его продукцию при моделировании ишемического инсульта // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* – 2013 - (3):39–46
7. Худоерков Р. М., Савинкова И. Г., Струкова С. М., Горбачева Л. Р., Гуляев М. В., Пирогов Ю. А., Сальков В. Н., Соболев В. Б., Гаврилова С. А., Кошелев В. Б. Влияние активированного протеина С на размеры моделируемого ишемического очага и морфометрические показатели нейронов и нейроглии в его перифокальной зоне. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* – 2014 - 157(4):534–537
8. Федорова Т. Н., Гаврилова С.А., Морозова М. П., Девятов А. А., Бережной Д. С., С. Л. Стволинский. Нейропротекторное действие карнозина в условиях фокальной ишемии мозга // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* – 2017 - 20(4):25–31
9. Федорова Т. Н., Девятов А. А., Лопачев А. В., Лопачева О. М., Морозова М. П., Гаврилова С. А., Стволинский С. Л. Изменения нейрохимических характеристик ипси- и контралатерального полушарий мозга у крыс при моделировании фокальной ишемии и влияние на них карнозина // *Фундаментальные проблемы нейронаук. Функциональная асимметрия. Нейропластичность. Нейродегенерация* – 2014 - 364–372.

Официальный оппонент _____ Гаврилова С.А.

(подпись)

Подпись С.А. Гавриловой заверяю.

Для документов

СПЕЦИАЛИСТ ПО КАДРАМ Е.Ю. Яковлева