

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Копытовой Алены Эдуардовны на тему «Оценка эффективности фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы на первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Гоше и GBA-ассоциированной болезнью Паркинсона», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – биохимия.

### Актуальность

Работа посвящена современному в настоящее время подходу к терапии тяжелых нейропатических форм болезни Гоше (2 и 3 типы), а также форм болезни Паркинсона, связанных с дисфункцией глюкоцереброзидазы, ассоциированных с мутациями в гене *GBA1*. Ведь на сегодняшний день не существует нейропротекторной терапии для данных заболеваний, в то время как таргетные препараты, направленные на повышение активности глюкоцереброзидазы, могут быть эффективны при обеих нозологиях.

В последние годы активно разрабатывается шаперонотерапия для различных форм лизосомных болезней накопления, а лечение форм с вовлечением ЦНС особенно актуально на сегодняшний день, так как таких разработок мало.

В связи с этим, попытка автора обосновать эффективность применения шаперонов для пациентов с нейропатическими формами болезни Гоше и *GBA1*-ассоциированных форм болезни Паркинсона представляется весьма актуальной и имеет перспективы внедрения в клиническую практику.

Целью диссертационного исследования являлась разработка системы скрининга фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы и оценка их эффективности в восстановлении функций глюкоцереброзидазы с использованием пациент-специфичных клеток.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, результатов и выводов, сформулированных в диссертации, определяется высоким методическим уровнем исследования, четким определением цели и

задач исследования для выявления наиболее эффективных соединений, пригодных для шаперонотерапии заболеваний, ассоциированных со снижением активности глюкоцереброзидазы.

Диссертантом проведен отбор клеточной линии, пригодной для проведения анализа (макрофаги крови) - наиболее быстрый, чувствительный и менее дорогостоящий подход, позволяющий изучать молекулярно-генетические механизмы дисфункции глюкоцереброзидазы, а также пригодный для скрининга потенциальных препаратов, направленных на восстановление функции этого фермента. Проведена оценка влияния фармакологических шаперонов: амброксол, N07 и его модификаций на активность глюкоцереброзидазы, концентрацию гексозилсфингозина в клетках первичной культуры макрофагов, а также оценка транслокации глюкоцереброзидазы в лизосомы в дофаминергических нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента с GBA-ассоциированной болезнью Паркинсона. Показаны перспективы использования исследованных фармакологических шаперонов для таргетной терапии, при патологиях, ассоциированных с мутациями гена *GBA1*.

Достоверность исследования обеспечена применением адекватных и современных биохимических, молекулярно-биологических и клинических методов, достаточным объемом исследованных выборок, а также корректной статистической обработкой полученных результатов исследований.

Научная новизна исследования и полученных результатов заключается в разработке системы скрининга соединений, направленных на восстановление функции глюкоцереброзидазы с использованием клеток первичной культуры макрофагов пациентов с мутациями в гене *GBA1* с оценкой активности глюкоцереброзидазы и концентрации лизосфинголипидов.

Впервые показано влияние фармакологического шаперона амброксол на повышение ферментативной активности глюкоцереброзидазы и снижение



концентрации лизосфинголипидов в клетках первичной культуры макрофагов пациентов с GBA-болезнью Паркинсона.

Впервые проведена оценка эффективности аллостерического активатора глюкоцереброзидазы - N07 в клетках первичной культуры макрофагов пациентов с болезнью Гоше и GBA-болезнью Паркинсона (носителей гетерозиготных мутаций гена *GBA1*) и дофаминергических нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента с GBA-болезнью Паркинсона. Показано, что фармакологический шаперон N07 повышает активность глюкоцереброзидазы в культивируемых макрофагах пациентов с болезнью Гоше, а также пациентов с GBA-болезнью Паркинсона, гетерозиготных носителей «легкой» мутации N370S, но не у пациентов с GBA-болезнью Паркинсона, носителей «тяжелой» мутации L444P. В культивируемых макрофагах пациентов с болезнью Гоше и дофаминергических нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента с GBA-болезнью Паркинсона, фармакологический шаперон N07 повышает количество глюкоцереброзидазы в клетках и степень транслокации глюкоцереброзидазы в лизосому, в макрофагах также снижает концентрацию лизосфинголипидов.

Результаты диссертационного исследования имеют перспективы использования исследованных фармакологических шаперонов для таргетной терапии, при патологиях, ассоциированных с мутациями гена *GBA1*.

Автореферат написан хорошим литературным языком, позволяет сделать вывод о тщательности и достоверности выполнения исследования.

По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 7 статей в изданиях из утвержденного Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных для публикации основных результатов диссертационных исследований для соискания ученой степени кандидата биологических наук, и 18 тезисов докладов.

Заключение. Таким образом, все вышеизложенное позволяет считать, что диссертационное исследование Копытовой Алены Эдуардовны на тему «Оценка эффективности фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы на первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Гоше и GBA-ассоциированной болезнью Паркинсона» по своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, степени реализации представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая решает важную задачу разработки и апробации современных методов терапии при болезни Гоше и GBA-ассоциированной болезни Паркинсона (носителей гетерозиготных мутаций гена *GBA1*).

Диссертация Копытовой Алены Эдуардовны на тему «Оценка эффективности фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы на первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Гоше и GBA-ассоциированной болезнью Паркинсона», выполненная под руководством д.б.н. Пчелиной Софьи Николаевны, полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 N 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Врач-генетик первой квалификационной категории консультативного отделения Санкт-Петербургского государственного казенного учреждения здравоохранения «Диагностический центр (медико-генетический)»  
К.М.Н.

Н.В.Бучинская

Личную подпись врача-генетика Бучинской Натальи Валерьевны заверяю:  
заместитель главного врача по кадрам СПб ГКУЗ МПЦ

О.В.Виноградова





Сведения об авторе отзыва: Наталья Валерьевна Бучинская, кандидат медицинских наук, врач-генетик консультативного отделения Санкт-Петербургского государственного казенного учреждения здравоохранения «Диагностический центр (медико-генетический)», ассистент кафедры госпитальной педиатрии ГОУ ВО Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

Адрес основного места работы:

194044 г. Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д.5, тел: 8(812) 241-24-85

e-mail: [gkdmgenc@zdrav.spb.ru](mailto:gkdmgenc@zdrav.spb.ru)