

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
нейронаук и медицины»
(НИИНМ)

630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 4

Тел.: (383) 335-98-55, E-mail: inm@neuronm.ru, www.neuronm.ru

ОКПО 01898500, ОГРН 1025403649831, ИНН 5408106370, КПП 540801001

От 09.01.2023 № 33-07/01
На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор НИИНМ

д.м.н., профессор, академик РАН



Л.И. Афтанас

2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины»

на диссертационную работу Белозор Ольги Сергеевны «Роль астроглии в патогенезе спиноцереbellярной атаксии первого типа», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Во всем мире отмечается неуклонный рост числа хронических нейродегенеративных заболеваний, что является актуальной медицинской и социальной проблемой, поскольку страдает работоспособное население, увеличивается число инвалидов, возрастают расходы на длительную терапию и реабилитацию больных. К таким заболеваниям относится

спиноцеребеллярная атаксия первого типа (СЦА1). Причиной развития СЦА1 является мутация в гене *ATXN1*, кодирующем белок Атаксин 1, что вызывает нарушение функций последнего, изменение его свойств и накопление нерастворимых паталогических белковых агрегатов в нейронах. В то же время, отмечены и другие механизмы нейродегенерации, такие как митохондриальный стресс и активация нейровоспалительного ответа, вовлеченные в патогенез СЦА1. Все это приводит к гибели нейронов мозжечка и нарушению двигательной функции. На сегодняшний день СЦА1 имеет только симптоматическое лечение, позволяющее лишь на некоторое время несколько снизить темпы развития нейродегенерации. Таким образом, тщательное изучение патогенетических механизмов развития СЦА1 и поиск новых мишеней и подходов для разработки патогенетической терапии является важным направлением биомедицинских исследований.

Несмотря на увеличившееся в последнее время число исследований, посвященных изучению роли астроцитов и микроглии в рамках моделей нейродегенеративных заболеваний на животных, роль астроглиоза в патогенезе нейродегенерации до конца не ясна. Некоторые из этих исследований представляют доказательства того, что реактивная глия может обладать нейропротективным действием, другие же предполагают, что астроциты и микроглия усугубляют нейродегенерацию. Такое противоречие является актуальной проблемой фундаментальной медицины.

Таким образом, диссертационная работа Белозор О.С., посвященная исследованию роли астроцитоза в развитии нейродегенерации на ранних стадиях СЦА1, является актуальной. Результаты работы являются важными для понимания механизмов нейродегенерации при СЦА1 и возможности регуляции этих процессов для разработки новых подходов к лечению патологии.

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

Представленные в работе О.С. Белозор данные отличаются научной новизной, поскольку раскрывают ранее не изученные механизмы формирования нейродегенерации при СЦА1, связанные с астроглиозом в мозжечке. Автором разработаны модели с селективной активацией глии Бергмана в мозжечке мышей, такой подход позволил получить новые данные о роли активированных астроцитов в патогенезе нейродегенерации при СЦА1. На этих моделях автором убедительно доказано, что изменение морфологии и функции глии Бергмана, наблюдаемое при астроглиозе, негативно влияет на морфологию клеток Пуркинье. У модельных животных отмечено снижение количества клеток Пуркинье и уменьшения толщины молекулярного слоя. Впервые показано негативное влияние активированной глии Бергмана на синаптическую передачу и пластичность при СЦА1-подобной патологии. В ходе работы получены оригинальные данные о том, что астроглиоз приводит к нарушению обратного захвата нейромедиаторов из синаптической щели, а также кратковременной и долговременной синаптической пластичности. Все эти механизмы лежат в основе развития эксайтотоксичности, нарушений морфологии и функции клеток Пуркинье при СЦА1. Выводы, сформулированные в диссертационном исследовании, являются новыми и расширяют существующие представления о патофизиологических механизмах нейродегенерации при СЦА1.

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

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов обеспечены соответствующим дизайном исследования, грамотным использованием современных молекулярно-генетических подходов (включая оптогенетический метод), классических электрофизиологических и поведенческих методов, а также выполненной на высоком уровне статистической обработкой полученных данных. Статистический анализ

выполнен корректно и отражает современный подход к проведению статистического анализа.

Сделанные автором выводы и выносимые на защиту положения основаны на полученных результатах. Материалы диссертационного исследования в необходимом объёме представлены в публикациях в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах. Полученные результаты были обсуждены на конференциях всероссийского и международного уровня.

Научная и практическая значимость полученных автором диссертации результатов

Данная работа имеет значение для фундаментальной науки в области исследования роли астроглии и патологических механизмов нейродегенерации. Результаты диссертационного исследования Белозор О.С. углубляют существующие представления о роли активированной глии Бергмана в патогенезе нейродегенерации при СЦА1. Понимание механизмов возникновения патологии сделает возможным разработку более эффективных стратегий лечения СЦА1.

Разработанные модели ранней стадии астроглиоза могут быть полезны не только для исследования влияния активированных астроцитов на клетки Пуркинье мозжечка при СЦА1, но и при других нейродегенеративных заболеваниях мозжечка. Также эти модели могут использоваться для преclinical оценки разрабатываемых средств и подходов в терапии нейродегенеративных заболеваний мозжечка.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты могут быть учтены в процессе разработки новых способов патогенетической терапии СЦА1 в академических научных учреждениях биомедицинского профиля. Модель селективного астроглиоза при СЦА1 можно рекомендовать для проведения доклинических исследований и скрининга лекарственных средств. Теоретические положения

исследования могут быть использованы в курсах лекций и учебных пособиях для студентов биологических и медицинских факультетов ВУЗов.

Общая оценка диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и содержит титульную страницу, оглавление, введение, 4 основные главы («Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение результатов»), заключение, выводы, список сокращений, список цитируемой литературы. Материал диссертации изложен на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирован 36 рисунками и 6 таблицами. Список цитируемой литературы включает 190 источников, в том числе 8 отечественных и 182 зарубежных; есть ссылки на свежие результаты последних 5 лет (27 источников).

Во введении дана общая характеристика изучаемой проблематики: обозначены актуальность и значимость исследования, поставлена цель и сформулированы задачи, объяснена новизна полученных данных, постулированы выносимые на защиту положения, вкратце охарактеризована методология исследования. Кроме того, представлена информация об апробации работы и обозначен личный вклад соискательницы.

Литературный обзор соответствует теме диссертации и является полным источником информации о патогенезе СЦА1. Несомненным достоинством обзора является критичность изложения, а также акцентирование внимания на существующих пробелах в направлении исследований механизмов СЦА1, в том числе, в области моделирования патологии у животных, что и определило четкость поставленных цели и задач исследования. Представленный обзор свидетельствует о хорошем знании автором современных данных по исследуемой проблеме.

Методы исследования описаны подробно, адекватны поставленным задачам. Можно с уверенностью заключить, что работа выполнена на высоком современном методическом уровне. Данная глава иллюстрирована

схемами Протокола создания моделей нейродегенерации и подходов к анализу конфокальных изображений коры мозжечка.

Результаты проведенных экспериментов изложены на 45 страницах машинописного текста. Этот раздел иллюстрирован многочисленными рисунками и таблицами. Иллюстративный материал в полной мере отражает полученные результаты. Обсуждение результатов, часть из которых достаточно сложна для интерпретации, проведено диссертантом квалифицировано, что свидетельствует о его научной зрелости.

Автореферат соответствует тексту диссертации, публикации автора полно отражают основное содержание работы.

Замечания и вопросы по диссертации

Существенных замечаний к оформлению работы, выбору методов исследования, изложению результатов нет. Однако в ходе прочтения диссертации возникли следующие *комментарии*:

1) Выводы: помимо собственно выводов, много перечислений фактов, которые уже были изложены в разделах результаты.

2) Указано, что часть данных представлена как $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартная ошибка среднего. Однако SD – устоявшееся обозначение для другого статистического параметра, стандартного отклонения (standard deviation).

3) Сокращение DSE приведено в списке сокращений в автореферате, но не в тексте диссертации.

4) В разделе «Материалы и методы», возможно, стоило расширить схему, иллюстрирующую протоколы создания моделей нейродегенерации, и привести полный дизайн экспериментов, с указанием периода тестирования поведения, моментов забора материалов для анализа и т.д.

Вопросы:

1) Из каких соображений была выбрана длительность фотостимуляции у оптогенетических моделей 4 дня?

2) Почему снижается экспрессия EAAT1 в астроцитах на модели с селективной экспрессией ATXN1[Q85]? Какова роль атаксина в регуляции экспрессии транспортера?

3) Из-за чего в большей степени нарушен обратный захват глутамата астроцитами во время астроглиоза, из-за снижения экспрессии транспортера EAAT1 или из-за слома внутриклеточных условий для работы этого транспортера (натриевый градиент)? Какие потенциальные молекулярные мишени для терапии СЦА1 можно обозначить на основании проведенного диссертационного исследования?

Вышеизложенные замечания и вопросы не являются принципиальными, носят дискуссионный характер и не снижают значимости проведенного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Белозор Ольги Сергеевны «Роль астроглии в патогенезе спиноцереbellарной атаксии первого типа» является законченной научно-квалификационной работой, направленной на решение научной задачи определения роли активированной глии Бергмана в патогенетических механизмах СЦА1.

По актуальности темы, новизне полученных данных и их научно-практической значимости, объему выполненных автором исследований диссертационная работа полностью соответствует требованиям пп. 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Отдела клинической нейронауки поведения и нейротехнологий Федерального государственного

бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины» – Протокол № 1, от 9 декабря 2022 г.

Главный научный сотрудник, заведующая лабораторией экспериментальных моделей нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», доктор биологических наук

Тихонова М.А.

Главный научный сотрудник, заведующая лабораторией трансляционной биопсихиатрии, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», доктор биологических наук, доцент

Амстиславская Т.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины».

630117, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д.4. (383) 335-98-55. inm@neuronm.ru

Подписи д.б.н. М.А. Тихоновой и д.б.н., доцента Т.Г. Амстиславской заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», к.м.н.



Севрюкова Н.Ф.