

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лисачева Павла Дмитриевича «Нейропластичность и экспрессия генов (нейро-глиальное взаимодействие и формирование долговременной потенциации синаптической передачи)», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Изменения эффективности синаптической передачи, носящие долговременный характер, являются ключевым физиологическим механизмом обучения и памяти, в частности процесса ее консолидации. Важную роль в сохранении синаптических модификаций играет экспрессия генов. Реорганизация синапсов, возникающая при этом, сопровождается значительными изменениями в транскриптоме мозга, анализ которых представляется необходимым для выяснения механизмов нейропластичности. Традиционно основная масса исследований проявления нейрональной пластичности связывается с феноменом долговременной потенциации синаптической передачи (ДВП), лежащем в основе обучения и памяти. При этом подавляющее их большинство нацелены в первую очередь на процессы, протекающие в нейронах. В то же время достаточно хорошо известно, что функциональная активность глиальных элементов, в частности, астроцитов вносит существенную лепту в описываемые механизмы и роль астроцитов здесь весьма велика. Однако в основных руководствах по нейрофизиологии физиологические процессы, протекающие в глиальных клетках, и их кооперативный вклад в обеспечении активности нервных

клеток представлены довольно ущербно. В рамках феномена ДВП это касается, в частности, секреции одного из важнейших продуцируемых глией регуляторных факторов – белка S100B. S100B модулирует нейронную активность и синаптическую пластичность. В физиологических концентрациях он проявляет трофические свойства и препятствует активации макрофагов мозга, в патологических условиях его уровень может повышаться, и он, напротив, становится токсичным.

Диссертация Павла Дмитриевича Лисачева посвящена роли глиальных клеток (астроцитов) в нейропластичности. Пластичность нервной системы имеет ключевое значение для механизмов адаптации и памяти, ее нарушения сопровождают многие тяжелые заболевания мозга. Поэтому молекулярно-клеточные основы нейропластичности являются важнейшей проблемой физиологии нервной системы и медицины, а работа П.Д. Лисачева, несомненно, является актуальной в плане ее фундаментального и потенциально медицинского значения.

В качестве модели нейропластичности была выбрана долговременная потенция синаптических связей в срезах гиппокампа – классическом объекте электрофизиологических исследований, широко используемом как для решения фундаментальных научных задач, так и для фармакологических исследований, имеющих прикладное значение. Исходя из основной цели – изучения роли глии – был выбран для анализа специфичный для глиальных клеток белок S100B, способный секретироваться из астроцитов и выступать в качестве нейромодулятора, регулирующего нейронную активность и синаптическую пластичность. Значительную часть работы составляет выяснение механизмов изменений экспрессии гена *S100B* в процессе формирования долговременной потенции. Выполненная автором идентификация регуляторной сети, контролирующей экспрессию *S100B*, может быть полезна не только для развития представлений о механизмах нейропластичности, но и для выяснения причин увеличения уровня этого белка в мозге при некоторых заболеваниях, а также для оценки возможности

и последствий использования сигнальных факторов, участвующих в регуляции гена *S100B* в качестве мишеней фармакологического воздействия.

В ходе работы автором впервые установлено увеличение экспрессии генов *S100B* и *S100A1* после индукции долговременной потенциации в поле СА1 гиппокампа.

Также впервые показано, что убиквитинлигаза Mdm2 и деацетилаза Sirt1 существенно ограничивают базальный уровень мРНК *S100B*, а его увеличение, индуцированное высокочастотной стимуляцией афферентных волокон, зависит от глутаматных рецепторов NMDA-типа и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых протеинкиназ.

Доказано участие транскрипционного фактора p53 в регуляции генов при формировании долговременной потенциации. Обнаружено, что индукция ДВП в гиппокампе сопровождается временным увеличением связывания p53 с промотором гена *S100B*, что и является одной из причин изменения его экспрессии.

Выявлено снижение количества белка p53 при формировании ДВП и показана ключевая роль Mdm2 и Sirt1 в этом феномене.

Идентифицирована группа генов, в регуляции которых при ДВП принимают участие нутлин-3-зависимые факторы, к которым принадлежит p53. Эта группа включает в себя некоторые мишени p53 из семейства *Bcl2*: впервые показано, что в ранней фазе ДВП увеличивается экспрессия проапоптозного белка Bax и уменьшается экспрессия антиапоптозного белка Bcl2.

Совокупность полученных результатов и данных литературы позволила автору заключить, что при формировании ДВП генетический аппарат астроцитов оказывается вовлеченным в механизм нейроглиального взаимодействия, отвечающего за тонкую настройку синаптических связей.

Диссертация оформлена в традиционном стиле и включает введение, обзор литературы, описание объекта и методов исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы из 446 источников.

Иллюстративный материал представлен 8 таблицами и 26 рисунками, что вполне достаточно.

Во введении показана актуальность работы, поставлены четкие цели и задачи, сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость результатов.

В обзоре литературы достаточно полно изложены современные представления о молекулярных механизмах нейропластичности, роли глии, белках S100B и S100A1 и механизмах регуляции p53.

При знакомстве с работой у меня не возникло принципиальных замечаний ни методологического, ни концептуального характера, однако в плане дискуссии хотелось бы задать автору несколько вопросов.

Вопросы и замечания, возникшие при чтении диссертации:

1. Насколько физиологична процедура тетанизации?

2. Не связано ли увеличение экспрессии S100B после тетанизации с непосредственным действием электростимуляции на глиальные клетки, находящиеся вблизи стимулирующих электродов?

3. Количество белка S100B увеличивается после индукции ДВП в 2-3 раза. Какие функциональные последствия для организма может иметь такое увеличение содержания S100B в мозге, учитывая тот факт, что в высоких концентрациях этот белок токсичен?

4. Диссертация посвящена достаточно узкому и специфическому процессу - участию генетического аппарата глии в механизмах нейрональной пластичности и роль транскрипционного фактора p53 в регуляции генов при формировании долговременной потенциации синаптической передачи. В литературном обзоре именно этими (за исключением небольших отступлений) рамками ограничен физиологический процесс ДВП. В то же время читателю, не являющемуся узким специалистом в обсуждаемом вопросе было бы очень интересно иметь краткую характеристику функциональной роли глии в процессах нейрональной передачи и места в ней глиальных элементов.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационной работы и носят сугубо дискуссионный характер

Технические замечания к оформлению диссертации отсутствуют.

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием самых современных методов научного поиска. Используются электрофизиологические, молекулярно-биологические, фармакологические и информационные методы. В работе представлен обширный фактологический материал.

Полученные результаты соответствуют поставленным цели и задачам и подверглись корректной статистической обработке, что сообщает исследованию достоверный характер. Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Основные научные результаты диссертации изложены в 21 издании, в том числе в 10-ти сборниках материалов научных конференций и 11-ти рецензируемых научных журналах.

Содержание диссертации соответствует указанной специальности.

Автореферат включает все необходимые пункты и соответствует тексту диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Павла Дмитриевича Лисачева «Нейропластичность и экспрессия генов (нейро-глиальное взаимодействие и формирование долговременной потенциации синаптической передачи)» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований получены новые научные результаты и разработаны теоретические положения, касающиеся закономерностей регуляции экспрессии генов при формировании ДВП и участия генетического аппарата глии в механизмах нейрональной пластичности, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение. Работа соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а соискатель заслуживает ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент:

Николай Иннокентьевич Суслов, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией фитофармакологии и специального питания «Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д.Гольдберга» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук».

Почтовый адрес: 634050, г. Томск, пер. Кооперативный д. 5.

Телефон: +7-906-9511218

Электронный адрес: nis-51@mail.ru

(Н.И. Суслов)

Подпись доктора медицинских наук, профессора заведующего лабораторией фитофармакологии и специального питания «Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д.Гольдберга» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук» д.м.н., профессора Н. И. Сулова, удостоверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук»

к.б.н.

28 октября 2016г.



И.Ю.Хитринская