



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Институт экспериментальной медицины»  
(ФГБНУ «ИЭМ»)

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ФГБНУ «ИЭМ»  
д.б.н., профессор РАН

\_\_\_\_\_ А.В. Дмитриев  
«    » \_\_\_\_\_ 2018 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Институт экспериментальной медицины» на диссертацию  
Тихоновой Марии Александровны  
«Нейрофизиологические и молекулярно-генетические механизмы  
поведенческих нарушений, обусловленных нейродегенеративными  
изменениями в головном мозге: экспериментальное исследование»,  
представленную на соискание ученой степени  
доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология**

**Актуальность избранной диссертантом темы и ее связь с планами соответствующих отраслей науки и практической деятельности.**

Диссертационная работа М.А. Тихоновой посвящена рассмотрению важнейшей проблемы современной нейрофизиологии, а именно, выявлению ключевых патогенетических механизмов развития когнитивного дефицита при нейродегенеративных заболеваниях. Эффективная терапия и профилактика данных

нейродегенеративных заболеваниях. Эффективная терапия и профилактика данных заболеваний требуют тщательного изучения механизмов их развития, а выявление физиологических и молекулярно-генетических основ нейродегенерации представляется перспективным направлением биомедицинских исследований в этом направлении.

В настоящее время когнитивные нарушения (нарушения внимания, памяти, ориентации, мышления и др.) считаются почти обязательным признаком нейродегенеративных заболеваний, в частности, болезни Паркинсона (БП). Развитие когнитивных нарушений при данной форме патологии существенно снижает качество жизни пациентов и их родственников, усложняет уход за больными, ухудшает прогноз и резко повышает риск развития других психотических расстройств. В основе развития когнитивных нарушений пациентов с БП на ранних стадиях болезни лежит нарушение дофаминового (ДА) обмена в головном мозге; ключевую роль в регуляции когнитивной деятельности играет мезокортикальный ДА-путь, который соединяет вентральную зону покрышки и лобные доли больших полушарий. Недостаточность ДА-ергической нейротрансмиссии в мезокортикальном пути, в свою очередь, ведет к вторичной дисфункции лобных долей головного мозга, первыми проявлениями которой являются брадифрения и снижение гибкости мышления.

Использование экспериментальных моделей является неотъемлемой частью этих исследований, поскольку позволяет применить четкий дизайн и комплексный анализ от отдельных молекулярных показателей до оценки общих реакций организма. В представленной работе с помощью нескольких моделей на животных с генетически обусловленными и экспериментально вызванными нейродегенеративными расстройствами были проанализированы физиологические и молекулярно-генетические корреляты нейродегенеративных изменений в мозге, а также применены оригинальные подходы для их экспериментальной коррекции, что определяет актуальность данного исследования в теоретическом и практическом аспектах.

Таким образом, учитывая вклад когнитивных нарушений в общую клиническую картину нейродегенеративных заболеваний, их своевременная диагностика могла бы позволить начать своевременную терапию, снизить темп

развития инвалидизации пациентов и увеличить качество и продолжительность их жизни. В этом отношении, представляемое исследование является передовым, имеющим фундаментальное и практическое значение.

**Научная новизна полученных результатов, выводов и положений, выносимых на защиту.**

Представленные в работе М.А. Тихоновой данные отличаются научной новизной, поскольку раскрывают ранее не изученные механизмы формирования когнитивного дефицита при действии неблагоприятных экологических факторов и при отягощенной наследственности.

В ходе работы получены оригинальные данные о нейрофизиологических особенностях и молекулярно-генетических механизмах регуляции нейродегенеративной патологии на моделях на животных. Так, впервые исследована нейрональная активность различных зон гиппокампа и nigrostriарной системы и корреляционные связи между активностью этих зон, а также с плотностью нейронов в них у крыс, моделирующих БП за счет селективного разрушения ДА-ергических нейронов черной субстанции нейротоксином МФТП. Выявлено ослабление нейрональной активности гиппокампа, коррелирующее с уменьшением плотности нейронов, а также показана положительная корреляция между плотностью ДА-ергических нейронов nigrostriарной системы, плотностью и активностью пирамидных нейронов гиппокампа.

У крыс линии OXYS, генетической селекционной модели ускоренного старения и спорадической болезни Альцгеймера (БА), впервые обнаружены дефициты распознавания, исследованы профили экспрессии генов ферментов, вовлеченных в метаболизм А $\beta$ , что позволило выявить снижение уровней экспрессии гена одного из ферментов деградации А $\beta$ , ангиотензин-конвертирующего фермента типа 2 (ACE2), в мозге, которое может нарушать метаболизм А $\beta$  и усиливать его нейротоксичность. Впервые изучены особенности нейрональной активности в центрах обработки ольфакторной информации в ответ на социально значимые запаховые стимулы у крыс с ускоренным старением, вызванным длительным введением Д-галактозы. В рамках генетической модели депрессивноподобного состояния у мышей впервые продемонстрированы

ассоциации с такими нейроморфологическими изменениями как уменьшение размеров гипофиза, промежуточного мозга (включая гипоталамус) и стриатума, а также увеличение размеров таламуса. Впервые исследована связь между генетической предрасположенностью к каталепсии и реакцией на эмоциональный стресс: показаны изменения в стресс-индуцированном подъеме уровня кортикостерона в плазме крови у мышей, предрасположенных к каталепсии, по сравнению с мышами, резистентными к каталепсии, а часовой эмоциональный стресс усиливал проявление каталепсии у мышей.

Кроме того, в диссертационной работе М.А. Тихоновой применены оригинальные подходы к экспериментальной коррекции нарушений, вызванных нейродегенеративными изменениями в мозге, и изучены подлежащие механизмы. Автором впервые показана эффективность антибиотика цефтриаксона с нейропротекторными свойствами в отношении когнитивного дефицита, вызванного нейродегенеративными нарушениями в рамках моделей БА и БП. Выявлено, что коррекция когнитивных нарушений была ассоциирована с восстановлением нейрональной плотности и активности в гиппокампе и нигростриарной DA-ергической системе. Кроме этого, соискателем выявлены новые молекулярно-клеточные механизмы нейропротекторного действия цефтриаксона, связанные с повышением устойчивости нейронов к окислительному стрессу.

На модели генетически обусловленной депрессивноподобной патологии впервые исследовано влияние нейротрофина BDNF и нового вещества с потенциальным психотропным действием 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амина (ТС-2153) на каталепсию и депрессивноподобное поведение у мышей.

**Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов.**

В работе выявлены ранее не известные нейроморфологические, нейрофункциональные и молекулярные корреляты нейродегенеративных нарушений на модельных объектах. Проведено изучение роли нейродегенеративных процессов в патогенезе генетически обусловленных депрессивноподобных состояний, что хорошо соотносится с современными

тенденциями в клинических исследованиях, указывающими на важную роль нейротрофической дисфункции и нейродегенеративных изменений в мозге у больных депрессией.

Методы фармакологической коррекции нейродегенеративных нарушений, предложенные и экспериментально проверенные в диссертации М.А. Тихоновой, основаны на глубоком патогенетическом анализе. Выявленные в работе эффекты антибиотика цефтриаксона, нейротрофина BDNF и TC-2153 демонстрируют терапевтический потенциал данных веществ в качестве будущих нейропротекторных и психотропных препаратов.

Таким образом вопросы, затронутые в работе диссертанта, имеют существенную теоретическую и практическую значимость с точки зрения фундаментальных механизмов, обеспечивающих сохранность клеток ЦНС, так и в аспекте разработки методов выявления и коррекции нарушений когнитивных функций с дальнейшим применением полученных знаний для разработки новых терапевтических средств и расширения области применения для уже используемых в клинике препаратов.

**Достоверность результатов исследования** обеспечена его соответствующим дизайном. адекватным использованием классических поведенческих и современных молекулярно-генетических подходов к исследованию проблемы, а также выполненной на высоком уровне статистической обработкой полученных данных. Обращает на себя внимание тот факт, что сложная методика проведения экспериментов, несомненно, потребовала от автора весьма скрупулёзного подхода к анализу полученных экспериментальных данных. При сборе и анализе результатов автор использовал разнообразные методологические подходы, позволившие разносторонне охарактеризовать изучаемые явления. Статистическая обработка полученных данных проведена корректно и отражает современный подход к проведению статистического анализа. Несколько удивляет, что из всех возможных *post hoc* критериев автор выбрал LSD критерий Фишера, который является самым слабым из всех имеющихся в программе Statistica 10.0. критериев.

**Содержание диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению.**

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, включающий 618 наименований, из них 44 на русском языке. Работа изложена на 357 страницах машинописного текста, иллюстрирована 81 рисунками, а также включает 13 таблиц.

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, во введении представлен список публикаций, в которых изложены основные результаты работы, а также обозначен личный вклад.

Литературный обзор соответствует теме диссертации, изложен на 45 страницах машинописного текста. В обзоре М.А. Тихонова описывает современные представления о патогенезе нейродегенеративных расстройств. Кроме этого, ею представлено описание имеющихся представлений об особенностях старения нервной системы, механизмы развития когнитивных расстройств при БА и БП. Также в обзоре литературы автор приводит характеристику существующих моделей нейродегенеративных процессов и описывает имеющиеся экспериментальные подходы к терапии нейродегенеративных заболеваний и депрессивных расстройств. Представленный обзор свидетельствует о хорошем знании автором современных данных по исследуемой проблеме.

Методы исследования описаны подробно, адекватны поставленным задачам, поэтому можно с уверенностью заключить, что работа выполнена на высоком методическом уровне. Глава «Материалы и методы» занимает 59 страниц. Данная глава иллюстрирована схемой введения цефтриаксона при изучении его влияние на активацию микроглии в рамках ЛПС-индуцированной модели острого нейровоспаления; примером животного в состоянии каталепсии; приведена фотография установки для тестирования эффективности очистки шерсти

животным и др. В отдельные подглавы вынесено описание методов нейровизуализации и молекулярно-биологических методов.

Результаты проведенных экспериментов изложены на 104 страницах машинописного текста. Этот раздел иллюстрирован многочисленными рисунками и таблицами. Иллюстративный материал в полной мере отражает полученные результаты. В частности, на основе полученных данных автор убедительно показал, что когнитивные нарушения у крыс в рамках модели БП, вызванной нейротоксином МФТП, не связаны с функцией внимания. Нейроморфологические и нейрофункциональные корреляты когнитивных дисфункций у этой модели включают снижение плотности нейронов и ослабление нейрональной активности в гиппокампе и нигростриарной системе. У крыс линии OXYS, генетической селекционной модели ускоренного старения и спорадической БА, продемонстрированы ранние нарушения функции распознавания. Нейроморфологические корреляты нарушений поведения в этой модели сопровождалось снижением плотности нейронов в СА1 зоне гиппокампа. Автором также установлено снижение уровней мРНК Ace2 (гена фермента ACE2, одного из ферментов деградации A $\beta$ ) в мозге у крыс линии OXYS на ранних этапах развития патологии по сравнению с крысами Вистар. Тихоновой М.А. выявлены нейроморфологические корреляты генетической предрасположенности к каталепсии и депрессивноподобному состоянию у мышей, которые вместе с антикаталептическим и антидепрессивноподобным эффектами нейротрофического фактора BDNF подтверждают ассоциацию высокой генетически обусловленной предрасположенности к каталепсии с наследственными дисфункциями и дисморфологией мозговой ткани нейродегенеративного характера.

**Замечаний** к оформлению работы, выбору методов исследования, изложению результатов в ходе прочтения диссертации не возникло. Однако в тексте диссертации вскользь упоминаются, но не раскрываются в полной мере представляющиеся дискуссионными и заслуживающие большего внимания вопросы взаимосвязи генетических и средовых факторов в развитии нейродегенеративных повреждений. В этой связи хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. Какой смысл автор вкладывает в выражение «генетические механизмы поведенческих нарушений, обусловленные нейродегенеративными изменениями в головном мозге»? Что есть причина, а что следствие?

2. Автором выявлены ранее неизвестные нейроморфологические корреляты генетической предрасположенности лабораторных животных к каталепсии. Известны ли подобные корреляты предрасположенности к БП/БА с ранним началом?

Результаты диссертационного исследования прошли необходимое рецензирование и апробацию. Материалы работы были доложены автором на множестве международных и российских конференций, опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в библиографических базах данных PubMed и РИНЦ, всего 20 статей в рецензируемых журналах. Работа является оригинальным научным исследованием на актуальную тему, в ходе которого получен новый, вызывающий интерес материал. Выводы адекватны результатам исследования. Не вызывает сомнений личный вклад автора в планирование, выполнение исследований, обработку материала, анализ и написание статей.

**Рекомендации о том, в каких учреждениях, организациях, службах, отраслях хозяйства могут быть использованы результаты напрямую или после клинической апробации.**

Полученные результаты могут быть учтены при разработке новых трансляционных подходов к лечению деменции, вызванной старением и нейродегенеративными заболеваниями, депрессии в академических научных учреждениях биомедицинского профиля. Теоретические положения исследования могут быть использованы в курсах лекций и учебных пособиях для студентов биологических и медицинских факультетов ВУЗов.

## **Заключение**

Диссертационная работа Тихоновой Марии Александровны «Нейрофизиологические и молекулярно-генетические механизмы поведенческих нарушений, обусловленных нейродегенеративными изменениями в головном



мозге: экспериментальное исследование» является крупным, комплексным, логически организованным и законченным научным трудом. По объему, актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора биологических наук, а ее автор, Тихонова Мария Александровна, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология» биологические науки)

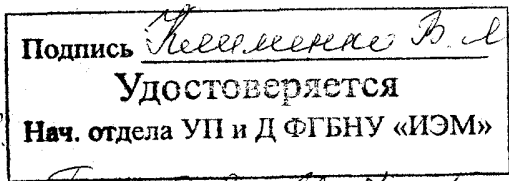
Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании Физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины", Протокол № 136, от 17 октября 2018 г.

Заведующий Физиологическим отделом им. И.П. Павлова  
и Лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,  
Почетный доктор Института экспериментальной медицины,  
доктор медицинских наук, профессор Клименко Виктор Матвеевич

«17» октября 2018 г.

  
 Клименко В.М.

Почтовый адрес: 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12  
Юридический адрес: 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12  
Тел.: +7 (812) 234-94-89  
Эл. адрес: [iem@iemrams.ru](mailto:iem@iemrams.ru);  
Сайт: <https://iemspb.ru>

Зален  
  
Толстова В.А.