

ОТЗЫВ

официального оппонента д.м.н., профессора Ивановой Светланы Александровны 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 темы диссертации

В настоящее время, изучение вопросов патогенеза психических и поведенческих расстройств являются актуальными в связи с широкой распространенностью, высокой заболеваемостью и социальной значимостью. Деменции, вызванные нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезни Альцгеймера и Паркинсона, представляют серьезный вызов для здравоохранения и общества в целом. Нейродегенеративные заболевания являются на сегодняшний день неизлечимыми, приводят к тяжелой инвалидизации больных и значительному экономическому ущербу. К 2030 году прогнозируется увеличение численности пациентов с нейродегенеративными заболеваниями в два раза, что связывают с увеличением продолжительности жизни населения в большинстве развитых стран. Распространенность депрессивных расстройств также неуклонно возрастает и составляет около 20%. Всемирная организация здравоохранения сравнивает депрессию с эпидемией, охватившей все человечество. На 51 сессии ВОЗ было объявлено: депрессия уже вышла на первое место в мире среди причин неявки на работу, на второе – среди болезней, приводящих к потере трудоспособности. По прогнозам ВОЗ, в течение ближайших несколько лет депрессия выйдет на первое место в мире среди всех заболеваний по причине смертности, обогнав сегодняшних лидеров - инфекционные и сердечно-сосудистые заболевания. Установлено, что примерно 50% пациентов с депрессией хотя бы один раз в жизни совершали суицидальные попытки. Для разработки новых подходов к ранней диагностике и эффективному лечению нейродегенеративных заболеваний и депрессивных расстройств необходимо глубокое понимание механизмов функционирования мозга в норме и при патологии, прояснение особенностей патогенеза этих заболеваний и выявление ключевых звеньев/мишеней, которые могут быть задействованы в перспективе для коррекции подобной патологии. Классическим способом решения таких задач считается использование *in vitro* моделей и моделей на животных, и этот подход был успешно применен и в настоящем диссертационном исследовании М.А.

Тихоновой. В свете вышеперечисленного работа М.А. Тихоновой, является актуальной и представляет значительный теоретический и практический интерес.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость результатов, полученных в диссертации

Соискатель использовала *in vivo* и *in vitro* модели и широкий спектр современных методических подходов (от оценки поведения на уровне организма, определения нейроморфологии и нейрональной активности на уровне отдельных структур мозга до изучения молекулярно-генетических особенностей тканей и клеток), что позволило ей получить результаты, обладающие несомненной научной новизной. В диссертационной работе М.А. Тихоновой впервые:

- показаны снижение нейрональной активности гиппокампа, коррелирующее с уменьшением плотности нейронов в исследованных зонах, и положительные корреляции плотности дофаминергических нейронов в черной субстанции с плотностью и активностью пирамидных нейронов гиппокампа на модели болезни Паркинсона, вызванной разрушением нейронов черной субстанции, у крыс;

- выявлены ранние нарушения функции распознавания у крыс линии OXYS, генетической селекционной модели ускоренного старения и болезни Альцгеймера, а также снижение уровней экспрессии гена одного из ферментов деградации Аβ (ангиотензин-конвертирующего фермента типа 2, ACE2) в мозге у крыс этой линии в молодом возрасте;

- показано, что ускоренное старение, вызванное длительным введением D-галактозы, провоцирует изменения активности центров обработки ольфакторной информации в ответ на социально значимые запаховые стимулы;

- обнаружена ассоциация генетически обусловленного депрессивноподобного состояния у мышей с рядом нейроморфологических изменений (уменьшение размеров гипофиза, стриатума и промежуточного мозга);

- установлена связь между эмоциональным стрессом и генетически обусловленной каталепсией: стресс усиливает проявление каталепсии, а стресс-индуцированный подъем уровня кортикостерона в плазме крови у мышей, предрасположенных к каталепсии, снижен по сравнению с мышами, резистентными к каталепсии;

- продемонстрирована эффективность антибиотика цефтриаксона с нейропротекторными свойствами в отношении когнитивных дисфункций и

нейрональных дефицитов в гиппокампе и нигростриарной системе, вызванных нейродегенеративными нарушениями, на моделях болезней Паркинсона и Альцгеймера. Определены новые молекулярно-клеточные механизмы действия цефтриаксона, связанные с повышением устойчивости нейронов к окислительному стрессу, снижением уровней фосфорилированных киназ, модуляцией экспрессии генов ферментов, вовлеченных в метаболизм А β , снижением накопления А β в мозге, ослаблением активации микроглии;

- описано влияние нейротрофического фактора BDNF на половое мотивационное поведение самцов и каталепсию: у мышей линии ASC введение BDNF в мозг нормализовало сниженную выраженность половой мотивации и ослабляло проявление каталепсии;

- указано на высокую антикаталептическую активность и антидепрессантоподобное действие нового вещества с потенциальным психотропным действием 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амина (ТС-2153).

Теоретическая значимость работы определяется тем, что соискателем установлены новые нейроморфологические, нейрофункциональные и молекулярные корреляты и ассоциации нейродегенеративных нарушений на моделях нейродегенеративных заболеваний (болезней Паркинсона и Альцгеймера) и депрессивных психозов. На основе полученных результатов расширены представления о механизмах развития этих патологий и возможных патогенетических способах их коррекции.

Значимость полученных результатов для практики определена тем, что автор продемонстрировала эффективность антибиотика цефтриаксона в отношении когнитивных и нейрональных дефицитов на моделях болезней Паркинсона и Альцгеймера, а также нейротрофического фактора BDNF и соединения ТС-2153 в отношении депрессивноподобных характеристик у мышей. Выявленные новые мишени и механизмы корригирующих эффектов этих веществ имеют важное теоретическое значение и могут найти применение в трансляционных исследованиях, направленных на борьбу с тяжелыми нейродегенеративными заболеваниями и депрессией.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, личный вклад автора

Достоверность и обоснованность результатов работы подтверждена хорошо продуманным дизайном исследования, большим количеством и разнообразием использованных экспериментальных моделей и современных высокоинформативных подходов к решению исследовательских задач, адекватными группами контроля и сравнения, обоснованными статистическими методами обработки экспериментальных данных, достаточным объемом выборок. Спектр и объем выполненной автором работы впечатляет: для решения поставленных задач соискатель привлекла как *in vivo* (восемь моделей на животных), так и *in vitro* (культуры нейронов и астроглии) подходы. Экспериментальные модели, воспроизведенные диссертантом, широко используются, их подробное описание и обоснование применения в настоящем исследовании приведены в диссертации.

Положения и выводы диссертации сформулированы на основе полученных результатов и полностью отвечают поставленным задачам, а исследование соответствует паспорту специальности «физиология» в области анализа механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций; исследования закономерностей функционирования основных систем организма (нервной системы); изучения механизмов функционирования клеток, тканей, органов, принципов их системной организации; разработки новых методов исследований функций животных и человека.

Результаты апробированы на многих российских и международных конференциях, в полной мере опубликованы в ведущих отечественных и международных профильных рецензируемых журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus. Не вызывает сомнений весомый личный вклад автора в планирование, выполнение исследований, обработку и представление материала в виде статей и диссертационной работы.

Структура и содержание диссертации

Рукопись изложена на 357 страницах и имеет классическую структуру, включающую введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», описание собственных результатов, обсуждение, заключение, выводы и список процитированной литературы. Работа содержит 13 таблиц и 81 рисунок. Список литературы включает 618 источников, из них 44 публикации на русском языке.

Во введении дана оценка современного состояния проблемы и обоснована актуальность проведения диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи работы, ее теоретическая и научно-практическая значимость, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы полно и логично представлен круг вопросов, относящихся к тематике диссертационного исследования. Автор проводит подробный анализ современного состояния исследуемой проблемы по данным литературы с акцентом на работы, опубликованные за последние пять лет. Приводятся концепции патогенеза нейродегенеративных заболеваний и данные о роли нейродегенеративных нарушений в развитии депрессивных расстройств. В отдельной подглаве рассматриваются основы моделирования психо- и невропатологии на животных, а также модели старения и заболеваний, относящихся к теме диссертационного исследования – болезнью Альцгеймера и Паркинсона, депрессии. Кроме того, диссертант освещает вопросы и проблемы лечения данных заболеваний. Этот раздел диссертации читается с большим интересом и может стать основой для написания обзорных статей. В целом, обзор литературы свидетельствует о высокой профессиональной эрудиции автора, умении творчески анализировать различные сведения.

Глава «Материалы и методы» дает полное представление о материалах и методах исследования и анализа данных. Автор очень подробно описывает использованные модели, экспериментальные манипуляции и методы тестирования поведения животных, биохимические и молекулярно-генетические методы лабораторного анализа, гистологические подходы к анализу нейроморфологии на зафиксированных срезах мозга и методы нейровизуализации *in vivo*, методы работы с культурами клеток мозга *in vitro*, а также использованные методы статистической обработки результатов. Данная глава подтверждает комплексный подход к решению поставленных в работе задач и высокую квалификацию М.А. Тихоновой как специалиста в области экспериментальной нейрофизиологии, свободно владеющего современными методами мирового уровня, применяемыми в нейронаучных исследованиях.

Результаты собственных экспериментальных исследований автор излагает в третьей главе. Раздел содержит пять основных подразделов. Первый посвящен изучению нарушений поведения животных, вызванных нейродегенеративными изменениями, что позволяет соотнести проявления у модельных животных с

симптомами моделируемой патологии и оценить ассоциации между различными поведенческими дефицитами и отклонениями. Второй подраздел подкрепляет полученные данные исследованием нейроморфологических и нейрофункциональных характеристик моделей психо- и невропатологии. Вместе результаты этих подразделов подтверждают валидность используемых моделей и раскрывают новые ассоциации и коррелятивные связи между поведением, активностью и морфологией различных областей мозга. Остальные подразделы описывают исследование экспериментальных подходов к коррекции нейродегенеративных нарушений и механизмов нейропротекторного влияния на охарактеризованных моделях. В целом, описание результатов сделано грамотно, прослеживается четкая логика изложения, представление части данных в виде наглядных красочных рисунков и таблиц помогает восприятию такого обширного материала.

В следующей главе автор обсуждает полученные результаты. Обсуждение выстроено логично, с учетом данных литературы в этой области. Анализ и трактовка собственных результатов представляются корректными и оригинальными. В заключении работы автор резюмирует проведенное исследование в виде основных тезисов и общей схемы, иллюстрирующей полученные в ходе выполнения диссертации результаты. Соискателем сделаны девять выводов, которые в полной мере отражают результаты и отвечают поставленным цели и задачам. Все выдвинутые положения, выносимые на защиту, хорошо обоснованы и аргументированы.

Автореферат диссертации корректно отражает содержание диссертации, ее основные разделы и положения. Оформление диссертации и автореферата соответствует установленным требованиям.

Таким образом, диссертация М.А. Тихоновой является логически завершенной научно-квалификационной работой, в ходе которой соискатель проявила себя самостоятельным исследователем, который легко ориентируется в данных литературы, умеет грамотно выдвигать гипотезы и формулировать задачи, владеет современными методами исследования в области нейронауки, способен претворять в жизнь комплексные исследовательские проекты.

Вопросы и замечания

В плане научной дискуссии хотелось бы узнать у автора о дальнейших перспективах исследования и получить ответы на некоторые возникшие вопросы:

- 1) На текущий момент есть ли какая-либо информация о попытках трансляции нейропротекторного действия цефтриаксона при нейродегенеративных заболеваниях, проведении клинических испытаний? Какие эффективные дозировки и режимы введения людям могут быть предложены, исходя из экспериментальных данных?
- 2) Определяли ли уровни нейротрофического фактора BDNF и его незрелой формы (proBDNF) в мозге у мышей линии ASC, модели депрессивноподобного состояния, использованной в диссертационной работе? Проводили ли сравнение уровней экспрессии гена *Bdnf* и его белковых продуктов у мышей линии ASC и «недепрессивных» мышей родительских линий?
- 3) По литературным данным, что известно об эффективности BDNF-миметиков в коррекции депрессивноподобных состояний?

К замечаниям непринципиального характера следует отнести употребление автором некоторых терминов, являющихся калькой англоязычной терминологии (например, пирамидальные нейроны вместо пирамидные нейроны), встречающиеся опечатки, стилистически неудачные предложения и неоптимальное форматирование некоторых рисунков. Однако эти недочёты носят дискуссионный и рекомендательный характер, не умаляют достоинств исследования и его общую высокую оценку.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационного исследования М.А. Тихоновой расширяют представления о механизмах развития нейродегенеративных заболеваний (болезней Паркинсона и Альцгеймера) и депрессивных психозов, что открывает новые перспективы для разработки эффективных подходов к профилактике и лечению этих недугов на основе выявленных в работе мишеней и маркеров. Отработанные экспериментальные протоколы и новые верифицированные методы оценки поведения животных могут быть использованы в преclinical исследованиях в области экспериментальной нейронауки, физиологии, фундаментальной медицины, нейрофармакологии. Теоретические положения исследования могут быть рекомендованы к включению в курсы лекций и учебные пособия для студентов, получающих высшее биологическое или медицинское образование.

Заключение

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

экспериментальное исследование» представляет собой законченный научный труд, вносящий существенный вклад в научные представления о физиологии мозга. По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа М.А. Тихоновой соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакциях от 21.04.2016. № 335 и 02.08.2016. № 748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор достойна присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

Зам. директора по научной работе,
зав. лабораторией молекулярной
генетики и биохимии
Научно-исследовательского института
психического здоровья
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
доктор медицинских наук,
профессор

Иванова Светлана Александровна

Подпись С.А. Ивановой удостоверяю

Ученый секретарь Томского НИМЦ
кандидат биологических наук

Дата: 01.11.2018



И.Ю. Хитринская

Данные об авторе отзыва:

Иванова Светлана Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией молекулярной генетики и биохимии Научно-исследовательского института психического здоровья Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Почтовый адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

Тел.: (3822)723832

Факс: (3822)724425

Эл. почта: ivanovaniipz@gmail.com