

ОТЗЫВ

доктора медицинских наук, профессора, главного научного сотрудника лаборатории нейробиологии и основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей" Министерства здравоохранения Российской Федерации **Пинелиса Всеволода Григорьевича** на автореферат диссертации Ивановой Анны Евгеньевны на тему **«Особенности влияния провоспалительных факторов на функциональное состояние астроцитов»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности физиология (03.03.01)

Актуальность диссертационной работы **Ивановой Анны Евгеньевны** «Особенности влияния провоспалительных факторов на функциональное состояние астроцитов», посвященной изучению функционального состояния астроцитов при ишемии не вызывает сомнений по следующим соображениям: 1) Выяснение механизмов взаимодействия (так называемый Crosstalk) нейронов и астроцитов в норме и патологии центральной нервной системы и способов коррекции нейрпатологических состояний является важной проблемой современной физиологии. При патологических состояниях, например, ишемии, астроциты активируются, и развивается реактивный астроглиоз с последующим формированием рубца. 2) Актуальной, но мало изученной проблемой является оценка действия целого ряда провоспалительных молекул на астроглию: (1) тромбина вследствие увеличенной проницаемости гематоэнцефалического барьера; (2) АТФ, высвобождаемого из нейронов пассивными и активными механизмами в области ишемии; (3) ЛПС, мощного провоспалительного соединения, появляющегося в области повреждения при бактериальной инвазии, который, в свою очередь, активирует Toll-подобные рецепторы 4-го типа и усиливает повреждение. Не вызывает сомнений и актуальность исследований, проведенных автором, на культивируемых астроцитах, подвергнутых действию кислородной и глюкозной депривации, как модели ишемии. Полученные данные, таким образом, могут способствовать поиску путей нормализации патологической

активации астроцитов для уменьшения негативных последствий инсультов и восстановления здоровья пациентов.

Научная значимость, теоретическая и прикладная ценность исследования определяется установлением следующих основных закономерностей:

1. Высокий методический уровень исследований диссертанта. Работа проводилась на культурах астроцитов крыс и мышей по авторскому протоколу. Использовался комплекс методов, позволивший оценить выживаемость/пролиферацию клеток, уровень некроза, относительное содержание NO, уровень экспрессии iNOS методом ПЦР в реальном времени, состояние цитоскелета, иммуноферментный анализ содержания цитокинов IL-6, TNF- α . Использовались методы вестерн-блоттинга и цитоиммуннохимии. Оценивалось состояние цитоскелета с использованием конфокальной микроскопии.
2. Комплексно охарактеризовано влияние провоспалительных факторов, ассоциированных с ишемией головного мозга, на функционально-морфологические параметры астроцитов в культуре.
3. Впервые показано, что тромбин в высоких концентрациях стимулирует формирование пустых полей в монослое первичной культуры астроцитов и индуцирует синтез и секрецию оксида азота (NO), секрецию интерлейкина-6 (IL-6) и активацию NF- κ B-пути в астроцитах кортекса крысы.
4. Впервые обнаружено, что нативные астроциты кортекса крысы под воздействием бензоил-АТФ, стабильного аналога АТФ, продуцируют NO с вовлечением индуцибельной NO-синтазы.
5. Впервые показано, что индукция синтеза NO, секреция цитокинов IL-6 и TNF- α в астроцитах кортекса крысы, обработанных бензоил-АТФ, обусловлена активацией пуринаергических рецепторов 2-ого типа, отличных от P2X7, и может усиливаться на фоне применения специфических ингибиторов P2X7.
6. Данная научная работа имеет высокую научно-практическую значимость и расширяет наши представления об особенностях функционирования астроцитов в норме и патологии.

Степень достоверности и апробация работы. Методы и подходы полностью соответствуют заявленной цели и задачам. Применены современные исследовательские методы, включая биохимические и молекулярные методы. Статистический анализ проводили в GraphPad Prism 5 и 6. Все эксперименты были выполнены минимум в 3-х независимых биологических повторах. В качестве независимого биологического повтора принимали результаты, полученные при анализе параметров астроцитов в культурах, выделенных из мозга новорожденных крысят в ходе одного процесса посадки клеток по стандартному протоколу. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных изданиях и 9 тезисов. Выводы соответствуют полученным данным.

Принципиальных замечаний нет, но хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Мне не понятно, почему тромбин и липополисахарид, обладая сходным провоспалительным действием на культивируемые астроциты крысы и индуцируя их пролиферацию, стимулируют секрецию NO и IL-6, но не TNF- α ? Последняя практически всегда активирована при гибели клеток, этот принцип лежит в основе создания генно-инженерных конструкций для лечения тяжелых инфекций.
2. Автор разработала модификацию получения культивируемых мышинных астроцитов. Вопрос: конкретно какие исследования были на них сделаны?
3. Почему бензоил-АТФ вызывает гибель астроцитов через активацию рецепторов P2X7, а в продукции NO участвуют иные пуриновые рецепторы? Есть ли в литературе аналогичные данные?
4. Одним из последствий астроглиоза является формирование рубца и как следствие, возникновение судорог. Обсуждались ли эти моменты в диссертации?

Заключение.

В заключении, диссертационная работа Ивановой Анны Евгеньевны «Особенности влияния провоспалительных факторов на функциональное состояние астроцитов», является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена важная научно-практическая задача и которая по своей

актуальности, методическому обеспечению, новизне, научному и практическому значению, степени апробации и полноте изложения в рецензируемых научных изданиях отвечает требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г., № 426 от 21.03.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

12 мая 2022 г.

Рецензент

Главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и основ развития мозга
Федерального государственного автономного учреждения "Национальный
медицинский исследовательский центр здоровья детей" Министерства
здравоохранения Российской Федерации доктор медицинских наук,
профессор

Пинелис Всеволод Григорьевич



Подпись доктора медицинских наук, профессора Пинелиса В. Г. «удостоверяю».
Зам.директора ФГАУ "НМИЦ здоровья детей" Минздрава России

Антонова Е.В.



Адрес: 119296, г. Москва, Ломоносовский пр., 2 стр. 1, ФГАУ "НМИЦ здоровья
детей" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел: +7 (499) 134-
30-83, Официальный сайт : <http://nczd.ru>, эл.почта :director@nczd.ru.