

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Силачёва Дениса Николаевича на диссертацию Ивановой Анны Евгеньевны на тему «Особенности влияния провоспалительных факторов на функциональное состояние астроцитов», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Актуальность проблемы

Инсульт занимает лидирующие позиции среди причин гибели и инвалидизации взрослого населения в мире согласно данным Всемирной организации по борьбе с инсультом (World Stroke Organization, WSO). В этой связи исследования, направленные на изучение патологических процессов в области ядра и пенумбры ишемизированной ткани, являются безусловно актуальными и полезными как для фундаментальной науки, так и для практики. В настоящий момент существует достаточно много данных об особенностях ишемического воздействия на ключевые клетки нервной системы – нейроны, в то время как влияние ишемии на нейроглию изучено в меньшей степени. В представленной диссертационной работе автор провёл комплексное исследование влияния ишемии на астроциты, клетки нейроглии. Для этого автор оценил эффекты депривации кислорода и глюкозы, как системного повреждающего фактора при ишемии, на астроглию. Также было проанализировано влияние отдельных изолированных провоспалительных факторов, сопряженных с ишемическим и травматическим повреждением головного мозга. В работе подробно охарактеризованы морфологические и функциональные особенности астроцитов при воздействии повреждающих факторов, предложены внутриклеточные и рецепторные механизмы, которые могут опосредовать наблюдаемые эффекты. Результаты работы обладают научной новизной и расширяют текущие научные представления о роли астроглии в патологических процессах в головном мозге.

Степень обоснованности и достоверности научных положений диссертации, выводов и рекомендаций

Диссертационная работа Ивановой Анны Евгеньевны представляет собой хорошо спланированное и логично выстроенное исследование. Выводы, научные положения и рекомендации обоснованы результатами диссертации и дают решение поставленным задачам. Использование современных методов и протоколов клеточной и молекулярной биологии, достаточное количество биологических повторов экспериментов, грамотная статистическая обработка данных подтверждают достоверность результатов диссертационного исследования, сформулированных на их основе научных положений, выводов и рекомендаций. Результаты диссертации представлены в 14 публикациях, из них 5 статей в научных журналах (входят в перечень ВАК РФ, индексируются в WoS и/или Scopus), и были многократно доложены на российских и зарубежных научных конференциях и симпозиумах.

Научная новизна результатов и выводов диссертации

Результаты диссертации и сформулированные на их основе выводы обладают научной новизной. Автор впервые показал, что обработка тромбином кортикальных астроцитов крысы вызывает формирование свободных от клеток зон, пустых полей, в монослое клеточной культуры. Обнаружено также, что тромбин стимулирует провоспалительную активацию астроцитов кортекса крысы, вызывая синтез и секрецию оксида азота (NO), интерлейкина 6 (IL-6) и активацию транскрипционного фактора NF-κB. Впервые показано, что активация пуринергических рецепторов при воздействии агониста бензоил-АТФ стимулирует синтез оксида азота (NO) нативными астроцитами. Обнаружено, что синтез оксида азота в астроцитах на фоне обработки бензоил-АТФ обусловлен запуском экспрессии гена индуцибельной NO-синтазы. Доказано, что в АТФ-зависимой провоспалительной активации нативных астроцитов крысы - синтезе NO, секреции IL-6, TNF-α - задействованы пуринергические рецепторы 2-ого типа, отличные от рецепторов P2X7. Наконец, в работе впервые показано, что

использование блокаторов P2X7 усиливает АТФ-зависимую провоспалительную активацию астроцитов кортекса крысы.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в диссертационной работе новые данные являются значимыми для науки, поскольку обогащают текущие научные представления об особенностях функционирования астроглии, важного компонента мозга, при ишемии и воспалении. Полученные в ходе работы сведения о влиянии тромбина, аденозинтрифосфата (АТФ) и липополисахарида (ЛПС) на реактивность астроцитов в перспективе могут быть использованы при создании терапии, направленной на купирование астроглиоза/гибели астроцитов и ослабление процессов воспаления при патологических состояниях мозга.

Рекомендации по применению результатов и выводов диссертации

Данные, полученные в диссертационной работе, представляют интерес для широкого круга специалистов – физиологов, патофизиологов, нейробиологов, и могут быть рекомендованы для применения в научных лабораториях, занимающихся проблемами физиологии и патофизиологии клеток мозга. Результаты и выводы диссертации могут применяться в учебном процессе, например, при чтении курсов молекулярной физиологии и нейрофизиологии в высших учебных заведениях Российской Федерации.

Общая характеристика диссертации, оценка её разделов

Диссертация написана грамотным языком, изложена на 171 странице и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы «Результаты», главы «Обсуждение», заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация содержит 34 рисунка, список литературы включает 381 источник.

Обзор литературы сделан качественно, занимает 42 страницы, выстроен логично и касается с одной стороны астроглии, её строения и функций в нервной системе. С другой стороны обзор описывает структуру, функции и системы сигнализации тромбина, АТФ и ЛПС. Приведены многочисленные

данные об участии данных сигнальных молекул и их рецепторов в реализации патологических процессов в мозге. Прочтение обзора даёт читателю понимание проблемы, на решение которой направлено диссертационное исследование, и обосновывает теоретическую и практическую значимость результатов диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы» представлен широкий спектр методов клеточной и молекулярной биологии, которые автор использовал в работе. Помимо детального протокола самой процедуры автор приводит принцип работы метода, где это требуется, что позволяет читателю лучше понять логику метода.

В главе «Результаты» приведены экспериментальные данные диссертационного исследования, отражающие значительный объем выполненной работы. Глава содержит достаточное количество иллюстративного материала и логично выстроена. В главе «Обсуждение» приведён сравнительный анализ полученных данных с данными научных литературных источников. Автор аргументированно предлагает объяснения процессов, показанных в диссертационной работе, формулирует свою точку зрения и выстраивает направления для дальнейших научных изысканий. Выводы ясно выстроены, соответствуют полученным результатам и дают ответ на поставленные в диссертационном исследовании задачи.

Текст диссертации соответствует установленным правилам научного цитирования, список литературы оформлен корректно.

Автореферат соответствует всем требованиям, предъявляемым к подобным работам, дает полное представление о структуре, объеме и содержании диссертации.

Замечания к диссертации

По диссертации можно сделать следующие замечания:

1. В описании условий моделирования кислородно-глюкозной депривации неправильно используется термин для описания восстановления концентрации кислорода, реперфузия вместо реоксигенация.

2. Имеются замечания к представлению графического материала, на диаграммах не указаны единицы измерения на оси ординат. Следовало также указать единицы измерения для такого параметра как «выживаемость».

3. В исследованиях по моделированию кислородно-глюкозной депривации гибель астроцитов являлась невысокой (около 20%). Подбирались ли соискателем другие условия моделирования с целью увеличения клеточной гибели?

4. В автореферате при описании результатов исследования необходимо указывать статистическую значимость различий результатов в тексте, а не только на рисунках.

5. Увеличение экспрессии GFAP может являться маркером активированных астроцитов, оценивали ли дополнительно изменения сигнала GFAP при формировании пустых полей?

Однако в целом, данные замечания относятся скорее к представлению и интерпретации экспериментальных данных, а не к их качеству, и никоим образом не умаляют высокой научной значимости и практической ценности полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Ивановой Анны Евгеньевны на тему «Особенности влияния провоспалительных факторов на функциональное состояние астроцитов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – изучены особенности влияния ишемии и связанных с ней факторов воспаления на астроглию, что имеет существенное значение для специальности 03.03.01 – Физиология.

Диссертация Ивановой Анны Евгеньевны соответствует 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 21.03.2021г.),
предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук,
а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории биохимии двигательных систем
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической
биологии имени А.Н.Белозерского
доктор биологических наук
14.03.03 – Патологическая
физиология (биол.науки)
«24» мая 2022 г.



Силачёв Денис Николаевич



Адрес организации: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической
биологии имени А.Н.Белозерского
Телефон, e-mail, рабочий телефон: +7(905)792-13-01,
silachevdn@belozersky.msu.ru, +7(495)939-59-44.