

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Баширзаде Алима Асиф оглы «Исследование нейрофизиологических механизмов развития и коррекции когнитивных дефицитов на нейротоксической модели болезни Альцгеймера у мышей», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – «патологическая физиология»

Актуальность темы исследования

Актуальность работы А.А. Баширзаде обусловлена несколькими факторами: а) увеличивающаяся из года в год распространенность социально-значимой нейродегенеративной патологии, в том числе болезни Альцгеймера, на фоне снижения возраста дебюта заболевания; б) отсутствие консолидированного мнения о ведущих клеточно-молекулярных механизмах развития нейродегенерации альцгеймеровского типа; в) перспективы разработки способов управления процессами аутофагии и нейровоспаления для коррекции когнитивного дефицита; г) высокая потребность в разработке новых фармакологических подходов к терапии болезни Альцгеймера и иных видов деменции, в том числе базирующихся на т.н. репрофилировании (репозиционировании) уже зарегистрированных лекарственных препаратов с целью расширения показаний для их использования. Несмотря на то, что болезнь Альцгеймера, в том числе ее модели на экспериментальных животных, находится в фокусе исследователей на протяжении последних трех десятилетий, по-прежнему критически мало известно о вкладе тех или иных патогенетически значимых механизмов в развитие неврологического дефицита. В разное время доминирующими точками зрения являлись аккумуляция белков с aberrантной конформацией, нарушения кальциевого гомеостаза в нейронах и клетках астроглии, массивная клеточная гибель, нарушения микроциркуляции и метаболизма в ткани головного мозга, нейровоспаление, повреждение синапсов и подавление нейрогенеза, которые могут носить генетически обусловленный или приобретенный характер. Признавая роль каждого из перечисленных механизмов, современная патофизиология нервной системы в большей степени

апеллирует к развитию каскада патологических процессов, в котором все перечисленные (и, вероятно, иные, еще не описанные) события формируют основу для необратимого нарушения пластичности головного мозга, проявляющегося прогрессирующим снижением когнитивных функций и способности к запоминанию, нарушением сложных форм поведения. В этом контексте, диссертация А.А. Баширзаде, целью которой стало экспериментальное изучение патофизиологических и патоморфологических коррелятов когнитивных дефицитов и методов их коррекции индукторами аутофагии и цефтриаксоном, является своевременным и актуальным исследованием.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Диссертация А.А. Баширзаде выполнена на современном методическом уровне, с использованием оригинального дизайна, основанного на предварительном анализе взаимосвязи различных механизмов, участвующих в патогенезе болезни Альцгеймера, что позволило автору получить интересные и новые данные.

В частности, научной новизной отличаются следующие результаты диссертационного исследования: а) особенности распространения и аккумуляции олигомеров бета-амилоида 25-35 в ткани головного мозга при их интрагиппокампальном и интрацеребровентрикулярном введении, свидетельствующие о регион-специфичности патологического процесса, индуцируемого агрегатами пептида; б) активация аутофагии в тестируемых регионах головного мозга при разных способах введения бета-амилоида 25-35; в) особенности развития нейровоспаления при разных способах введения бета-амилоида 25-35, свидетельствующие об активации астроглиального и микроглиального компонентов иммунного ответа только при интрацеребровентрикулярном введении пептида; г) особенности индукции митофагии в разных регионах головного мозга при различных способах введения бета-амилоида 25-36; д) равнозначность терапевтического эффекта активаторов mTOR-зависимой и mTOR-независимой аутофагии в плане предотвращения

развития когнитивного дефицита, нейровоспаления и аккумуляции бета-амилоида 25-35 в ткани головного мозга; е) суммирование антиаксиогенной активности активаторов mTOR-зависимой и mTOR-независимой аутофагии; ж) возможность перепрофилирования цефтриаксона как препарата, оказывающего благоприятный противовоспалительный эффект при нейродегенерации альцгеймеровского типа.

В целом, в работе убедительно показано, что бета-амилоид 25-35 при выборе соответствующего способа введения в ткань головного мозга демонстрирует регион-специфичность своих эффектов, индуцирует процессы нейровоспаления с участием астроцитов и клеток микроглии, способствует дизрегуляции аутофагии (интенсификация с последующим торможением), митофагии (разнонаправленные изменения в зависимости от способа введения и региона мозга), что соответствует динамике развития когнитивной дисфункции и нарушений поведения экспериментальных животных. Установлено, что указанные механизмы корректируются препаратами, стимулирующими процессы аутофагии или угнетающими процессы воспаления, что проявляется позитивным эффектом в отношении когнитивного дефицита и тревожности у животных с нейродегенерацией альцгеймеровского типа.

Считаю, что все основные результаты, представленные в работе, обладают несомненной научной новизной и свидетельствуют о достижении цели и решении задач диссертационного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Обоснованность научных положений и выводов, представленных в диссертации, подтверждается тем, что в работе: а) использован комплекс современных нейробиологических, патофизиологических, фармакологических, морфологических, молекулярно-генетических протоколов; б) разработан и реализован дизайн исследования, включающий в себя различные способы введения пептида, индуцирующего нейродегенерацию альцгеймеровского типа, различные временные точки для регистрации проявлений нейродегенерации,

необходимые комбинации тестируемых агентов (активаторы аутофагии, противовоспалительный агент); в) обеспечено соблюдение принципов формирования контрольных групп животных и серий экспериментов, а также адекватного статистического анализа полученных результатов; г) выполнен скрупулезный анализ существующих данных по проблематике работы, что обеспечило выбор наиболее информативных (для достижения цели настоящего исследования) маркеров; д) осуществлено представление и обсуждение результатов на конференциях различного уровня, а также в профильных российских и международных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, в том числе Q1.

Все это дает право сделать вывод о том, что в диссертации А.А. Баширзаде представлены новые экспериментальные данные, которые являются обоснованными и достоверными.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций

Теоретическая ценность полученных данных для фундаментальной науки (патофизиология, нейробиология) заключается в идентификации новых механизмов нейротоксического действия бета-амилоида 25-35, особенностей реализации его эффектов при различных способах доставки в мозг и в разных регионах головного мозга, в оценке вклада феномена аутофагии и нейровоспаления в развитие когнитивной дисфункции и нарушений эмоциональной сферы при экспериментальной болезни Альцгеймера.

Практическая ценность диссертационного исследования для решения задач в области нейротоксикологии и нейрофармакологии заключается в возможности применения протестированного автором алгоритма оценки эффектов бета-амилоида, активаторов аутофагии и препарата с противовоспалительной активностью для разработки дизайна исследований по смежной проблематике, а также с выполненным обоснованием возможности перепрофилирования лекарственного препарата с доказанной противовоспалительной эффективностью для достижения нейропротективного эффекта при развитии хронической нейродегенерации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Считаю, что результаты диссертационной работы А.А. Баширзаде могут быть рекомендованы к использованию в следующих областях: а) патофизиология нервной системы – при изучении механизмов развития нейродегенерации, оценке роли нейровоспаления и клеточной гибели в ее формировании и прогрессировании; б) фармакология – при поиске новых молекул-мишеней и выборе адекватных моделей *in vivo* для оценки эффективности препаратов при хронической нейродегенерации; в) физиология, биохимия, клеточная биология и биоинформатика – при анализе экспрессионного профиля клеток и роли белков-компонентов клеточных сигнальных систем в динамике развития аутофагии и митофагии, а также при повреждении ткани; г) высшее профессиональное образование в области биологии и медицины. Все указанные направления могут быть реализованы в университетах и академических центрах Российской Федерации.

Оценка содержания диссертации в целом. Диссертация А.А. Баширзаде изложена на 109 страницах, состоит из введения, четырех глав, общего заключения, выводов, списка литературы. Работа написана хорошим академическим языком, иллюстрирована рисунками и таблицами, читается с интересом.

Во **введении** автором раскрыты актуальность работы, ее цель и задачи, научная новизна, значимость полученных результатов, личный вклад автора, степень представленности результатов исследования научной общественности в форме докладов и опубликованных работ, положения, выносимые на защиту и общие данные о дизайне работы. Этот раздел написан четко и логично.

Глава 1 диссертации представляет собой обзор литературы, состоит из 5 разделов. Выполненный автором обзор демонстрирует то, что А.А. Баширзаде является сложившимся исследователем с хорошим уровнем теоретической подготовки, умеющим глубоко анализировать данные литературы. Глава содержит несколько иллюстраций.

В **главе 2** приводятся сведения о материалах и методах исследования. Этот раздел диссертации хорошо структурирован, информация представлена с отличным иллюстративным сопровождением, в котором наглядно продемонстрированы общий дизайн и дизайн отдельных фрагментов работы.

Глава 3 диссертации посвящена описанию результатов исследования. Следует отметить грамотно выстроенную последовательность изложения полученных данных – от результатов поведенческого тестирования и особенностей реализации процессов повреждения клеток, развития воспаления до эффектов соединений-модуляторов аутофагии и нейровоспаления в отношении выявленных механизмов в патогенезе хронической нейродегенерации. Описание результатов сопровождается достаточным количеством таблиц и рисунков, которые наглядно демонстрируют данные, полученные с использованием разнообразных исследовательских протоколов.

Глава 4 содержит обсуждение полученных результатов. В этой главе автор демонстрирует способность грамотно интерпретировать полученные данные. Несомненным достоинством этого раздела диссертации является очевидное присутствие авторского оригинального взгляда на изучаемую проблему, который необходим для критического и всестороннего анализа данных, в том числе имеющих несколько вариантов интерпретации.

В **Заключении** обобщены основные результаты работы. Этот раздел работы достаточно краток, но информативен, в большей степени сфокусирован на предложениях по дальнейшему практическому использованию результатов.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, достаточно информативен, отражает все основные результаты исследования. Замечаний принципиального характера по автореферату нет.

В целом, работа производит сугубо позитивное впечатление, однако при знакомстве с диссертацией возник **ряд замечаний и комментариев:**

1) В обзоре литературы приведены большей частью не оригинальные рисунки, поэтому представляется, что этот раздел больше бы выиграл от наличия в нем собственных схем автора, иллюстрирующих современные представления о комплексном патогенезе болезни Альцгеймера.

2) В тексте диссертации присутствуют неудачные термины и стилистические неточности (например, «трафик», «хориоидный плексус», «бета-амилоидоз», «полу-жизни», «модуляционный эффект на транскрипционную регуляцию, «дисрегуляция железа», «присущая грызунам склонность чередовать выбор рук при последовательных испытаниях», «моделируя данное заболевание центральным введением А β О25-35 в боковые желудочки и в гиппокамп, станет известно» и др.), а также единичные пунктуационные ошибки.

3) В легенде к рисунку 11 указано, что представлены данные и по зубчатой извилине гиппокампа, однако соответствующая диаграмма упущена; рисунок 20 неудачен в плане восприятия данных; рисунок 21 имеет низкое качество представленных микрофотографий; на рисунках с микрофотографиями представлена масштабная шкала для общего изображения клеток, но она отсутствует в увеличенных фрагментах в правом верхнем углу каждой микрофотографии; в некоторых рисунках автореферата в легенде упущено упоминание о размерности масштабной шкалы (хотя эта информация присутствует в тексте диссертации).

4) В обсуждении результатов автором не приведена собственная резюмирующая схема патогенеза болезни Альцгеймера, учитывающая, например, регион-специфичность в реализации токсических эффектов или аккумуляции бета-амилоида 25-35, динамические изменения выраженности аутофагии, а также особенности реакции микроглии на возникающее повреждение. Полагаю, что такой рисунок был бы достаточно интересен и оригинален, исходя из полученных автором новых данных.

Однако все указанные замечания не носят концептуального характера и не влияют на общее положительное впечатление о работе.

В порядке научной дискуссии хотелось бы задать автору **следующие вопросы:**

1) Из описания материалов и методов исследования не ясно, каким образом осуществлялась олигомеризация бета-амилоида 25-35 *in vitro*. Какой протокол был использован автором?

2) Автор предположил, что ликвородинамика способствует распространению бета-амилоида 25-35 между разными регионами головного мозга, что объясняет особенности проявления его эффектов, например, при интрагиппокампальном введении. Есть ли какие-то экспериментальные свидетельства такого механизма, и какие иные механизмы автор может предположить?

3) Могут ли, по мнению автора, результаты оценки экспрессии генов и белков-участников аутофагии (Atg8/LC3) быть связаны с тем, что в клетках экспрессируются разные представители семейства ATG8?

4) Какие конкретные практические рекомендации по выбору экспериментальной модели болезни Альцгеймера могут быть предложены на основании полученных автором данных?

Заключение

Диссертационная работа Баширзаде Алима Асиф оглы «Исследование нейрофизиологических механизмов развития и коррекции когнитивных дефицитов на нейротоксической модели болезни Альцгеймера у мышей» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствующую паспорту специальности «патологическая физиология», в частности, п. 2 (изучение механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенных факторов, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний), п. 8 (изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов), п. 11 (разработка новых путей этиотропной и патогенетической терапии с учетом взаимодействия лечебных мероприятий с защитно-приспособительными реакциями организма). Диссертация А.А. Баширзаде содержит решение актуальной научной задачи изучения клеточно-молекулярных механизмов развития нейродегенерации альцгеймеровского типа и поиска патогенетически обоснованных методов ее лечения.

Считаю, что диссертация Алима Асиф оглы Баширзаде «Исследование нейрофизиологических механизмов развития и коррекции когнитивных дефицитов на нейротоксической модели болезни Альцгеймера у мышей» по своей новизне, научной и практической ценности полученных результатов, перспективам их практического применения полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168 с изменениями от 26 мая 2020 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Баширзаде Алим Асиф оглы - заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – «патологическая физиология».

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник и заведующий лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии, заведующий отделом молекулярных и клеточных механизмов нейропластичности Института мозга федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», доктор медицинских наук (3.3.3 – патологическая физиология), профессор Алла Борисовна Салмина

Россия, 125367, г. Москва,
Волоколамское шоссе, д.80,
Тел. +7(495)9170999;
E-mail: allasalmina@mail.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора Салминой А.Б. удостоверяю:

Учёный секретарь
учреждения «Научный центр неврологии»,
кандидат медицинских наук

договорного государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», старший научный сотрудник,

Дмитрий Владимирович Сергеев

« 28 » февраля