

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Бурняшевой Алены Олеговны «Нейропластичность гиппокампа и её модуляция на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Уже в самом названии отражена актуальность решаемой проблемы. За последние 5 лет научный интерес к анализу механизмов появления и развития когнитивных симптомов, как основных при болезни Альцгеймера, возрос почти в геометрической прогрессии. И это в значительной степени касается значимости механизмов нейропластичности гиппокампа в дефиците пространственной памяти, являющимся ранним клиническим признаком болезни Альцгеймера, где зубчатая извилина играет решающую роль (Vyasa et al., 2020; Wander et al., 2023). В литературе до сих пор обсуждается вопрос о том, нарушает ли накопление патологических амилоидов нейрогенез гиппокампа и функционирование его сетей, участвующих в памяти, или измененный нейрогенез является эпифеноменом нейропатологии болезни Альцгеймера. Нарушение нейрогенеза возникает до образования амилоидных бляшек, что позволило выдвинуть гипотезу о дефиците нейрогенеза как причины снижения когнитивных способностей. В исследованиях преимущественно с использованием экспериментальных моделей болезни Альцгеймера на мышах представлены данные о регуляторной функции нейрональных стволовых клеток в нейропластичности, снижении количества новых нейронов, вовлеченных в энграмму пространственной памяти, уменьшении плотности дендритных шипиков (Chang et al., 2024; Mishra et al., 2022).

Кроме того, рассматриваются данные о роли глутаматергической и ГАМКергической систем, определяющих баланс возбуждения/торможения для нормальной функциональной деятельности мозга, и как этот дисбаланс при болезни Альцгеймера участвует в регуляции взрослого нейрогенеза. Новообразованные нейроны проходят начальную фазу ГАМК тонической активации с появлением деполяризующих ГАМКергических синаптических входов. Гиппокампальные сети помимо возбуждающих основных нейронов (гранулярные клетки зубчатой извилины и пирамидные клетки энторинальной коры) включают различные типы ГАМК интернейронов, осуществляющих тормозное влияние на соматулы, дендриты и начальный сегмент аксонов основных нейронов. Изменения в ГАМКергической передаче напрямую отражаются в неконтролируемых ответах нейронов, что, в свою очередь, провоцирует разрушительные микроглиальные и астроглиальные

ответы (нейровоспаление), приводящие к продукции А $\beta$  и дефектам в синаптической пластичности. Все эти факторы приводят к нарушению нейрональных коммуникаций внутри и между мозговыми областями, ответственных за процессы обучения и памяти. Синаптическое гипервозбуждение предшествует фенотипическим признакам болезни Альцгеймера. Среди механизмов рассматриваются гипервозбудимость ГАМК интернейронов, глутаматергическое возбуждение, вклад гиперактивных NMDA рецепторов.

Несмотря на обилие исследований, касающихся роли нейрогенеза гиппокампа и баланса возбуждения/торможения в развитии когнитивного дефицита, остаются недостаточно изученными механизмы изменений нейропластичности гиппокампа на разных стадиях развития болезни Альцгеймера. В диссертационном исследовании Бурняшева Алена Олеговна сконцентрировала внимание на решении именно этой актуальной задачи – проведен детальный анализ характеристик нейрогенеза и астроцитогенеза в зубчатой извилине и вклада глутамат/ГАМК сигнальных путей у крыс OXYS.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Следует признать, что ни одна из моделей болезни Альцгеймера не воспроизводит полный спектр поведенческих и когнитивных симптомов этой болезни. Консорциум по разработке и оценке моделей был создан Национальным институтом по проблемам старения с целью разработки более надежных моделей болезни Альцгеймера на животных, которые имели бы более близкое отношение к заболеваниям человека, стандартизации характеристик моделей, улучшения доклинических испытаний и создание клинически значимых биомаркеров болезни Альцгеймера. Основное внимание было направлено на разработку экспериментальных моделей на мышах.

В то же время преждевременно стареющие крысы OXYS являются стабильной моделью болезни Альцгеймера, в отличие от фармакологических, что позволяет проследить механизмы перехода физиологических возрастных изменений в мозге в патологический процесс на разных этапах развития болезни. Более того, она позволяет анализировать функции генов, патофизиологию болезни и определять возможные подходы к предотвращению и купированию разных симптомов болезни Альцгеймера. Настоящее исследование А.О. Бурняшевой выполнено с использованием уникальной модели ускоренного старения – крыс OXYS, наиболее полно соответствующей проявлениям признаков болезни Альцгеймера, и является этапом работы научного коллектива под руководством д.б.н., профессора Наталии Гориславовны Колосовой, что

отражено в многочисленных публикациях. Чтобы заполнить пробел в знаниях по проблеме механизмов изменений нейропластичности гиппокампа на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS в возрасте 1.5, 3, 12 и 18 месяцев, автор сконцентрировал свои исследования на анализе:

- особенностей нейрогенеза и астроцитогенеза в зубчатой извилине гиппокампа,
- активности возбуждающей глутаматергической и тормозной ГАМКергической систем мозга,
- характеристике обучения и пространственной памяти крыс OXYS при развитии у них признаков болезни,
- влияния пространственного обучения на нейро- и астроцитогенез в зубчатой извилине гиппокампа крыс OXYS и Вистар в молодом и зрелом возрасте. Это отражено в четко сформулированных цели и задачах исследования. Этому способствовал обзор литературы, где А.О. Бурняшевой из океана данных, полученных в многочисленных лабораториях мира за последние годы, удалось квалифицированно и критично выделить те идеи и факты, которые особенно важны именно с позиций диссертационной работы на проблеме взаимодействия факторов нейрогенеза, глутамат- и ГАМКергической систем и пространственной памяти на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS. Это большая заслуга автора.

Для получения результатов А.О. Бурняшевой освоена современная приборная база, использованы реактивы ведущих фирм-производителей, что подробно описано в разделе «Материалы и методы». Методы включают оценку обучения и пространственной памяти, иммуногистохимический анализ для оценки нейро- и астроцитогенеза, иммуноферментный анализ и вестерн блоттинг для оценки изменений глутаматергической и ГАМКергической систем, определение уровня мРНК генов, связанных с сигнальными путями глутамат/ГАМК в гиппокампе крыс OXYS и Вистар разного возраста. Все используемые методы адекватны, соответствуют решению поставленных задач. Корректный статистический анализ позволяет не сомневаться в достоверности полученных фактов, что существенно повышает значимость выводов и положений диссертации. Информативность и четкость изложения данного раздела диссертации свидетельствует о высокой квалификации А.О. Бурняшевой как экспериментатора, что чрезвычайно важно в патофизиологии.

**Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Поскольку цель любого научного исследования – получение новых знаний, то сразу отмечу, что новизна полученных А.О. Бурняшевой данных несомненна. Результаты

исследования представлены исходя из принципа неразрывности, последовательности доказательств особенностей нейрогенеза и астроцитогенеза в зубчатой извилине гиппокампа, роли глутаматергической и ГАМКергической систем и влияния обучения на нейрогенез и астроцитогенез в гиппокампе крыс OXYS на разных стадиях развития у них признаков болезни Альцгеймера. Впервые установлены факты: 1. Снижение темпов нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа с возрастом у крыс OXYS протекает более медленно, чем у Вистар. 2. Дефицит пространственного обучения и памяти у крыс OXYS в возрасте 1.5 и 3 месяцев и нарушение обучения в возрасте 18 месяцев в отличие от сохранения способности к формированию пространственной памяти у крыс Вистар. 3. Важным принципиально новым результатом, с моей точки зрения, является способность обучения положительно влиять на нейрогенез в гиппокампе в зависимости от возраста и генотипа крыс. Обучение крыс обеих линий в возрасте 1.5 и 3 месяцев вызывает усиленное созревание клеток-предшественников нейронального и астроцитарного рядов и нейробластов, при этом у крыс OXYS активация нейрогенеза происходит на более ранней стадии, чем у крыс Вистар. Обучение крыс обеих линий в возрасте 12 и 18 месяцев оказывает значительный эффект на астроцитогенез. Это чрезвычайно важные данные в аспекте корректирующих воздействий для замедления прогресса болезни, которые требуют дальнейших исследований. До сих пор терапевтические стратегии с мишенью нейрогенез сводились к использованию в качестве корректоров когнитивных нарушений физических нагрузок, трансплантации стволовых клеток, редко электрической стимуляции энторинальной коры, опто- и хемогенетической стимуляции супрамамиллярного ядра гипоталамуса, как выявлено на мышах в моделях болезни Альцгеймера. Есть единственная работа, где обнаружено, что хроническое пространственное обучение мышей в лабиринте Морриса ослабляет патогенные процессы болезни Альцгеймера, включая дефицит нейрогенеза (Zhao et al., 2022).

Достоинством работы является хорошо продуманное обсуждение, где диссертант продемонстрировал не только свою эрудицию, но и способность сопоставлять, анализировать, размышлять и выдвигать вполне обоснованные доводы для объяснения полученных фактов. Обсуждение отличается логичностью, последовательностью и всесторонностью доказательств основных результатов. В *положениях* и *выводах* диссертации четко определена значимость полученных новых данных о взаимоотношениях между интенсивностью пространственного обучения и памяти с нейрогенезом/астроцитогенезом в зубчатой извилине гиппокампа на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS.

**Значимость для науки и практики результатов диссертации соискателя и возможность конкретных путей их использования.**

В диссертационной работе А.О. Бурняшевой получены убедительные аргументы в поддержку гипотезы о том, что нарушение нейрогенеза предшествует развитию нейродегенеративных процессов при спорадической форме болезни Альцгеймера. Полученные данные в значительной мере расширяют и уточняют прежние представления о механизмах, лежащих в основе перехода от характерных для физиологического старения изменений (крысы Вистар) к развитию симптомов болезни Альцгеймера (крысы OXYS).

Результаты исследования о положительном влиянии пространственного обучения на нейрогенез в гиппокампе и необходимости начала воздействия в возрасте 1.5 и 3 месяцев до появления первых нейродегенеративных изменений могут быть использованы в качестве теоретической базы при разработке новых подходов к профилактике болезни Альцгеймера.

**Качество оформления диссертационного исследования** А.О. Бурняшевой соответствует высоким стандартам представления результатов научно-исследовательских работ. Диссертация включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результатов исследования, их обсуждение, выводы и список цитируемой литературы из 320 источников (8 отечественных и 312 – иностранных). Работа изложена на 137 страницах машинописного текста, содержит 21 рисунок, 2 таблицы и 1 приложение. Рисунки и схемы высокого качества.

**Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научных изданиях.** По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата наук. Результаты доложены на российских и международных конференциях.

Автореферат соответствует содержанию диссертации. В нем корректно отражены результаты и выводы работы, новизна, теоретическая и практическая значимость исследования.

**Положительные и отрицательные стороны работы.** Принципиальных замечаний к диссертации А.О. Бурняшевой нет, она заслуживает высокой оценки. Есть несколько вопросов уточняющего и дискуссионного плана.

1. С чем может быть связан малый латентный период нахождения спасательной платформы при изменении ее местоположения при переобучении у крыс Вистар в

возрасте 12 месяцев (рис. 17)?

2. По каким критериям вы оценивали способность к переобучению у 18-месячных крыс Вистар (рис 18)?

3. Свидетельствуют ли ваши результаты об отсутствии существенных изменений глутаматергической и ГАМКергической систем у крыс OXYS о незначительном вкладе этих систем в механизмы развития характерных для БА нейродегенеративных процессов? Хотелось бы знать ваше мнение.

4. Этот вопрос скорее дискуссионного плана. Известно, что один из ключевых компонентов патогенеза болезни Альцгеймера — гибель холинергических нейронов. У вас не возникала идея исследования вклада холинергической системы мозга в механизмы нейропластичности гиппокампа при развитии патологических признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS?

**Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о присуждении ученых степеней.**

Диссертация Бурняшевой Алены Олеговны «Нейропластичность гиппокампа и её модуляция на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS» является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи патофизиологии – выяснение причинно-следственной связи между нарушением нейрогенеза гиппокампа и развитием нейродегенеративных процессов на модели спорадической формы болезни Альцгеймера – у крыс OXYS. Диссертационное исследование по актуальности проблемы, высокому научно-методическому уровню, новизне и значимости результатов, полноте их опубликования отвечает критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Бурняшева Алена Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, главный научный сотрудник  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины»

Дубровина Нина Ивановна

13.05.2024г

Подпись Н.И. Дубровиной заверяю



Ученый секретарь НИИНМ  
к.б.н Жанаева С.Я.

