

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Айдагуловой Светланы Владимировны
на диссертацию Тюменцева Михаила Алексеевича

«Анализ вклада дисфункции митохондрий в развитие признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS», представленную в диссертационный совет Д 003.011.01 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы диссертационного исследования. Митохондрии, являющиеся неотъемлемыми органеллами клеток (кроме эритроцитов) и обладающие при этом собственной ДНК, привлекают пристальное внимание ученых, занимающихся клеточной биологией. Митохондрии синтезируют АТФ и участвуют в широком спектре сигнальных путей, вовлеченных в клеточный и тканевый гомеостаз, включая стабильность генома, экспрессию генов в ядрах и апоптоз. Наряду с этим, достаточно давно сложилось представление о том, что дисфункция митохондрий - маркер старения, установленный с помощью межвидового сравнения накопления «дисфункциональных» митохондрий в процессе естественного старения (Wallace, 1999).

В последние годы особое внимание уделено делению митохондрий и их гибели путем митофагии, т.е. селективной аутофагии, рассматриваемой как важный механизм «контроля качества» митохондрий, позволяющий утилизировать поврежденные органеллы. Как известно, митофагия обеспечивает механизм материнского наследования митохондриальной ДНК путем элиминации митохондрий сперматозоидов и является этапом дифференцировки эритроцитов.

При болезни Альцгеймера ослабление митофагии из-за мутаций в генах OPTN и TVK1 может индуцировать дисфункцию мотонейронов с фатальным боковым миосклерозом (Moore, Holzbaaur, 2016). Установлены структурно-функциональные изменения митохондрий в нейронах при других нейродегенеративных заболеваниях и возраст-зависимой нейродегенерации: среди них фрагментация, потеря дыхательной способности, перегрузка кальцием, повышенная генерация кислородных радикалов и скомпрометированная митофагия. Обсуждаются корреляции между генетикой нейродегенеративных расстройств и нарушением функции митохондрий, например, создана новая мышечная модель с дефицитом комплекса I. Изучают также способы восстановления структуры и функции

митохондрий при острой и хронической черепно-мозговой травме.

С позиций клеточной биологии, цитологии и гистологии, анализ современных опубликованных научных работ позволяет сконцентрировать внимание на следующих актуальных задачах, признанных особенно перспективными: изучение митохондрий в норме и патологии по данным использования энергетического субстрата, ультраструктурное изучение взаимодействия митохондрий и канальцев эндоплазматического ретикулума и на других аспектах, касающихся роли митохондрий в жизнедеятельности отдельных клеток, но влияющих на организм в целом. Цель диссертационного исследования Тюменцева Михаила Алексеевича - исследовать пути нарушения функций митохондрий и их вклад в развитие и прогрессию признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS. Тема кандидатской диссертации актуальна, фундаментальна и имеет определенный потенциал практического применения результатов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Исследование М.А. Тюменцева, поддержанное грантами РНФ и РФФИ, является очередным этапом большой работы научного коллектива под руководством д.б.н., профессора Наталии Гориславовны Колосовой. Диссертантом проведено отвечающее мировым стандартам комплексное исследование митохондрий в нейронах гиппокампа и префронтальной коры крыс на молекулярном и клеточном уровнях. Показано (Fivenson et al., 2017), что с возрастом накапливаются мутации и делеции в геноме митохондрий, развивается митохондриальная дисфункция с дефицитом АТФ, что ведет к старению (так называемому «mitochondrial dysfunction-induced senescence» и возраст-зависимым патологическим процессам. И настоящая работа выполнена на уникальной модели ускоренного старения, наиболее полно соответствующей сенильным изменениям у человека, в т.ч. со спонтанными проявлениями признаков болезни Альцгеймера, - на крысах OXYS трех возрастов с соответствующими контролями. Для получения результатов диссертантом освоены современная приборная база, использованы реактивы ведущих фирм-производителей, что отражено в разделе «Материалы и методы». В целом, проведен комплекс экспериментов и исследований образцов экспериментальных животных со статистической обработкой, что отвечает поставленным цели и задачам диссертационного исследования.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Достоинством и принципиально новым

аспектом является изучение митохондрий при онтогенетической манифестации признаков болезни Альцгеймера, что и явилось целью настоящей диссертации.

Впервые на экспериментальной модели, наиболее полно отвечающей клиническому прототипу самой распространенной - спорадической формы болезни Альцгеймера, представлены количественные и качественные особенности митохондрий в нейронах гиппокампа в онтогенезе. Доказано, что развитию признаков данной патологии у крыс OXYS предшествуют структурно-функциональные изменения митохондрий гиппокампа: в доклинический период (возраст крыс 20 дней) регистрируется снижение, по сравнению с крысами Вистар, активности дыхательной цепи, усилены генерация активных форм кислорода и слияние органелл, ведущее к образованию крупных митохондрий, а также появление митохондрий с характерным для пациентов с болезнью Альцгеймера фенотипом – «митохондрий-на-нитке».

Впервые доказано значительное снижение количества митохондрий в нейронах гиппокампа на этапах манифестации и прогрессии признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS, что коррелировало со снижением активности дыхательной цепи, нарушениями ультраструктуры, митохондриальной динамики и коммуникации с эндоплазматическим ретикулумом. Тем не менее, на этих стадиях не выявлены отличия от крыс Вистар по уровню генерации активных форм кислорода митохондриями нейронов мозга.

Установлено, что бета-амилоид, активно накапливающийся в нейронах гиппокампа крыс OXYS в период активной прогрессии признаков патологии, локализуется в мембране и матриксе митохондрий, а также в цитоплазме, ядре и отростках нейронов.

Впервые представлены доказательства способности митохондриального антиоксиданта SkQ1 смягчать проявления признаков болезни Альцгеймера у старых крыс OXYS на стадии значительных нейродегенеративных изменений. Указанный антиоксидант способен препятствовать деструктивным изменениям митохондриального аппарата в нейронах гиппокампа у старых животных.

Качество оформления диссертационного исследования М.А. Тюменцева в целом соответствует высоким стандартам представления результатов научно-исследовательских работ. В структуре диссертации имеются введение, литературный обзор, описание материалов и методов, изложение результатов собственных исследований в 7 разделах, обсуждение результатов, выводы и список литературы. Рисунки и схемы высокого качества.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научных изданиях. Положения диссертационной работы М.А. Тюменцева полностью опубликованы в периодических рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ для публикации материалов кандидатских и докторских диссертаций, в т.ч. в зарубежных рецензируемых научных журналах с высоким импакт-фактором.

Значимость для науки и практики результатов диссертации соискателя и возможность конкретных путей их использования. В данной работе изучен гиппокамп (древняя кора) как структура мозга, в которой, в первую очередь, по данным аутопсий, а также у крыс OXYS, депонируется бета-амилоид с формированием амилоидных бляшек. Получены убедительные аргументы в поддержку гипотезы «митохондриального каскада», согласно которой дисфункция митохондрий предшествует и способствует накоплению бета-амилоида и развитию нейродегенеративных процессов при болезни Альцгеймера.

Одновременно с этим, с учетом результатов опубликованных исследований, можно предполагать наличие универсального механизма структурно-функциональных изменений митохондрий в нейронах при различных нейродегенеративных заболеваниях. Наиболее вероятно, при болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваниях формирование митохондрий с аномальной формой, в т.ч. «на нитке», «Y-образных» или «с перетяжками», является по сути отражением незавершенного деления органелл в условиях особого спектра сигнальных процессов, свойственных нейродегенерации. С другой стороны, именно нарушение деления митохондрий и является одним из триггеров, индуцирующих нейродегенерацию как при старении, так и при патологии. Как пример, чем больше митохондрий в аксонах при экспериментальном моделировании рассеянного склероза, тем больше выражена аксональная дегенерация, документируемая по неврологическому дефициту (классификация Vando et al., 2015).

С практической точки зрения, полученные М.А. Тюменцевым данные должны заинтересовать клиницистов-неврологов в плане вероятности применения антиоксиданта SkQ1 не только у многочисленных пациентов с болезнью Альцгеймера, но и при других связанных и не связанных с возрастом нейродегенеративных заболеваниях, которые, как известно, весьма фатальны.

Положительные и отрицательные стороны работы. Принципиальных замечаний к диссертации нет, она заслуживает высокой оценки. Вызывает

восхищение обсуждение полученных результатов, состоящее из двух разделов и заключения, демонстрирующее глубокие знания по теме исследования и аналитические способности при сопоставлении всего комплекса данных.

Имеется единственный вопрос к диссертанту, который связан с положительным эффектом антиоксиданта SkQ1: если принять во внимание 5-й вывод, что исключительно в возрасте 20 дней и только при окислении одного субстрата – пирувата – генерация активных форм кислорода в выделенных митохондриях мозга крыс OXYS выше, чем у крыс Вистар, то как можно объяснить его позитивный эффект на старых крыс? Вероятно, SkQ1 обладает плеiotропным действием на митохондрии?

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о присуждении ученых степеней. Диссертация представляет собой законченное оригинальное научное исследование, соответствующее паспорту специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология в нескольких разделах, а именно: 1. Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, строения и функции клеток и тканей; 2. Изучение закономерностей дифференцировки клеток и тканей, их физиологической регенерации и регуляции этих процессов; 5. Исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов; 6. Молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных организмов в норме и патологии.

Диссертационное исследование Тюменцева Михаила Алексеевича «Анализ вклада дисфункции митохондрий в развитие признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS», выполненное под руководством доктора биологических наук, профессора Колосовой Наталии Гориславовны, является самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методическом уровне, в которой получен фактический материал, и содержится решение научной задачи – на животной модели с признаками болезни Альцгеймера изучена последовательность структурно-функциональных изменений митохондрий в нейронах гиппокампа, что имеет существенное значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии. Практическая значимость работы заключается в получении позитивного эффекта на проявления болезни Альцгеймера у старых животных в условиях применения антиоксиданта SkQ1.

Диссертационное исследование по актуальности, методическому уровню, значимости полученных результатов, выводов и полноте их опубликования

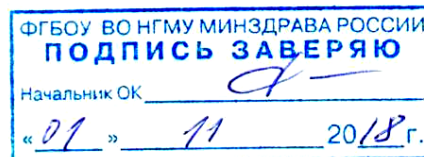
отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Тюменцев Михаил Алексеевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент

Заведующий лабораторией клеточной биологии
и фундаментальных основ репродукции ЦНИЛ
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Новосибирский государственный
медицинский университет» Минздрава России
доктор биологических наук (03.03.04),
профессор по специальности
03.03.04 – клеточная биология,
цитология, гистология

Айдагулова Светлана Владимировна

01 ноября 2018 г.



федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 630091, Новосибирск, Красный проспект, 52, тел. +7(383)2223204; s.aydagulova@gmail.com