

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Сорокиной Ирины Васильевны на диссертационное исследование Тюменцева Михаила Алексеевича «Анализ вклада дисфункции митохондрий в развитие признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS», представленное на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология) 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)

Актуальность темы. Болезнь Альцгеймера относится к нейродегенеративным ассоциированным с возрастом заболеваниям, особенно часто встречающимся в развитых странах с высокой продолжительностью жизни. В настоящее время патогенез этой болезни остается во многом неясным, что влечет за собой отсутствие научно обоснованных методов ее лечения. Традиционный взгляд на патогенез болезни Альцгеймера связан с гипотезой «амилоидного каскада», основанной на накоплении нейротоксических форм пептида амилоида-бета, как специфического патогенного фактора. Однако в настоящее время появилось много фактов, не укладывающихся в данную гипотезу, свидетельствующих о более сложном, системном характере изменений, предшествующих болезни Альцгеймера, которые связаны с общим старением организма. Согласно этим новым представлениям, ключевую роль в данных процессах играет митохондриальная дисфункция.

Известно, что митохондрии участвуют в развитии окислительного стресса и запуске механизма апоптоза – событий, играющих важную роль в инволютивных процессах в тканях, в том числе нервной. В связи с этим, в литературе обсуждается вопрос о вкладе дисфункции митохондрий, и связанного с ней энергетического дефицита, в нейродегенеративные

изменения, характерные для ряда заболеваний нервной системы, в частности, наиболее распространенной, спорадической формы болезни Альцгеймера. Митохондриальная дисфункция при этом рассматривается как механизм, обуславливающий развитие ранних стадий данной патологии, при этом энергетическая недостаточность является изменением характерным как нейронов головного мозга пациентов с болезнью Альцгеймера, так и ряда других клеток - фибробластов, лимфоцитов и тромбоцитов. Последнее время накапливаются данные, указывающие на ассоциированную с нейродегенерацией дисфункцию митохондрий, не связанную напрямую с продукцией кислородных радикалов. Одним из известных и последовательно выявляемых митохондриальных дефектов является снижение активности комплекса IV дыхательной цепи. Приведенные выше данные, лежащие в основе гипотезы «митохондриального каскада», нуждаются в дальнейшем экспериментальном подтверждении. В этой связи диссертационное исследование М.А. Тюменцева, посвященное роли митохондриальной дисфункции в развитии признаков болезни Альцгеймера у крыс линии OXYS, вносит существенный вклад в решение этой актуальной проблемы.

Несомненным достоинством работы является выбор адекватной экспериментальной модели, патогенетически соответствующей спорадической форме болезни Альцгеймера, наиболее часто встречающейся у людей. Основной целью соискателя являлось исследование нарушений функций митохондрий в процессе развития признаков, схожих с болезнью Альцгеймера, у крыс с генетически predetermined способностью раннего старения. Для достижения поставленной цели автор решал задачи определения динамики как ультраструктурных изменений митохондрий (в нейронах гиппокампа), так и их функциональной активности, определяемой по уровням белков-маркеров слияния и деления митохондрий, активности комплексов дыхательной цепи (I, IV и V) и генерации активных форм кислорода. В рамках исследования также решалась задача изучения влияния антиоксиданта SkQ1 на ультраструктуру митохондрий.

Оценка содержания диссертации и ее завершенности в целом.

Диссертационная работа М.А. Тюменцева, объемом 105 страниц, содержит введение, обзор литературы, главу с изложением материалов и методов исследования, главу с изложением результатов собственных исследований и их обсуждением, заключение, выводы и список литературы, включающий 163 источника в основном иностранных авторов. Работа иллюстрирована 21 рисунком и 1 таблицей. Структура и объем диссертации представляются адекватными заявленным цели и задачам.

Обзор литературы состоит из нескольких разделов, в которых подробно рассмотрены патогенетические основы и гипотезы развития болезни Альцгеймера, роль дисфункции митохондрий и окислительного стресса и возможные пути коррекции этой нейродегенеративной патологии. Особое внимание уделено различным экспериментальным моделям, в том числе модели линии крыс OXYS, как спорадической формы болезни Альцгеймера.

Литературные данные достаточно полно отражают современное состояние поднятых в диссертации вопросов, логично обосновывают цель и задачи диссертационного исследования, сформулированные в работе.

Выбор материалов и методов соответствует поставленным задачам и включает проведение экспериментов на животных и отбор биологического материала с выделением митохондрий. Образцы тканей гиппокампа и коры головного мозга исследовались методами световой и электронной микроскопии с применением иммуногистохимической техники. Для исследования специфических белков в митохондриальной фракции применялись методы ИФА и Вестерн-блот анализа, продукция АФК и активность ферментов дыхательной цепи определялась биохимическими методами. Методическая сторона работы не вызывает вопросов и соответствует современному уровню.

Раздел с изложением собственных результатов содержит данные, большинство из которых получено впервые. Прежде всего, это касается описания полной картины развития митохондриальной дисфункции в

нейронах гиппокампа крыс, проявляющейся на морфологическом и функциональном уровне, начиная с доклинической стадии у молодых животных и заканчивая прогрессией изменений в возрасте, соответствующем старческому.

Для доклинической стадии характерно снижение активности дыхательной цепи, усиление продукции АФК, образование крупных слившихся митохондрий и «митохондрий-на-нитке», которые соответствуют фенотипу болезни Альцгеймера. На поздних стадиях развития признаков БА у крыс OXYS значительно снижается количество митохондрий и активность дыхательной цепи, нарушается ультраструктура и митохондриальная динамика, снижается коммуникация с эндоплазматическим ретикуломом. Показано, что данные процессы сопровождаются накоплением бета-амилоида в мембранах митохондрий, их матриксе, а также в цитоплазме, ядре и отростках нейронов. Полученные результаты являются экспериментальным доказательством сопряженности процессов митохондриальной дисфункции и дегенеративных изменений в нервных клетках, что имеет фундаментальное значение для понимания патогенетического механизма болезни Альцгеймера.

Теоретическая и практическая значимость работы связана с подтверждением гипотезы «митохондриального каскада» как ключевого звена нейродегенеративного процесса при болезни Альцгеймера, что позволяет прогнозировать подходы к лечению данной патологии. Примером подобного успешного подхода можно считать применение митохондриального антиоксиданта SkQ1, способного смягчать проявления признаков болезни Альцгеймера у старых крыс OXYS путем подавления деструктивных изменений митохондриального аппарата в нейронах гиппокампа на стадии прогрессирования нейродегенеративных изменений.

Таким образом, диссертационная работа Михаила Алексеевича Тюменцева представляет собой высококвалифицированное комплексное

исследование, выполненное на высоком методическом уровне, результаты которого имеют научное и практическое значение.

Результаты исследования прошли апробацию на всероссийских и международных научных конференциях, опубликованы в 4 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Представленная работа имеет четкий стиль изложения и внутреннюю логику. Содержание автореферата и выводы соответствуют основным положениям диссертации.

Принципиальных замечаний к работе нет. Хотелось бы получить ответы на вопросы: 1) какие из обнаруженных Вами изменений могут служить маркерами в ранней диагностике болезни Альцгеймера; 2) можно ли считать митохондриальную дисфункцию универсальным неспецифическим патогенетическим механизмом для нейродегенеративных заболеваний?

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о присуждении ученых степеней. Диссертация соответствует паспорту специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология в нескольких разделах: 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.

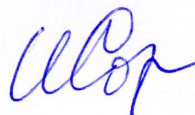
Диссертационное исследование Тюменцева Михаила Алексеевича «Анализ вклада дисфункции митохондрий в развитие признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS», выполненное под руководством доктора биологических наук, профессора Колосовой Наталии Гориславовны, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – изучена динамика ультраструктурных и функциональных изменений митохондрий в нейронах гиппокампа крыс в модели болезни Альцгеймера, что имеет существенное значение для

клеточной биологии, цитологии, гистологии. Работа имеет теоретическую и практическую значимость.

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, а Тюменцев Михаил Алексеевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории фармакологических исследований
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

 Сорокина И. В.

Адрес: 630090, г. Новосибирск,
проспект Академика Лаврентьева, д.9

benzol@nioch.nsc.ru

<http://web.nioch.nsc.ru/>

Подпись Сорокиной И.В. заверяю

Ученый секретарь НИОХ СО РАН

кандидат химических наук



Бредихин Р. А.

«06» 11 2018 г.