

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Никитина Сергея Сергеевича на диссертационную работу Шуваева Антона Николаевича на тему: «Клеточные и молекулярные механизмы развития полиглутаминовых атаксий и патогенетические принципы их коррекции», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.3.3. – патологическая физиология, 1.5.22. – клеточная биология

Актуальность темы диссертационного исследования и ее связь с практическими проблемами здравоохранения

Полиглутаминовые спиноцеребеллярные атаксии являются актуальной, но малоизученной проблемой как в Российской Федерации, так и во всём мире. Актуальность проблемы обусловлена тем, что это тяжёлые неизлечимые заболевания, приводящие к инвалидизации после 3-5 лет после дебюта заболевания. Нейродегенеративный процесс мозжечка и структур продолговатого мозга при этих состояниях обусловлен уникальными патогенетическими механизмами, которые непохожи на классическую дегенерацию альцгеймерского типа, и требуют глубокого изучения.

Белки, ответственные за развитие полиглутаминовых атаксий – атаксины, образуют с другими белками комплекс, взаимодействующий с ядерными рецепторами регуляции транскрипции. Их мутантная форма с удлинённой полиглутаминовой цепочкой не имеет возможности образовывать эти белковые комплексы, что приводит к деградации данных рецепторов и нарушению транскрипции десятков различных генов, отвечающих за метаболизм, рост и развитие клеток, а также элиминацию синапсов. Одной из важных молекул, деградирующих при таких патологических условиях, является метаботропный глутаматный рецептор 1 типа (mGluR1), который расположен на шипиках клеток Пуркинье.

В связи с вышеуказанным Шуваев А.Н. ставит перед собой цель - на

основании экспериментальных исследований на животных изучить роль mGluR1, а также других критически важных молекул в патогенезе полиглутаминовых атаксий и обосновать методы и приёмы коррекции mGluR1-зависимого пути передачи сигналов в мышинных моделях нейродегенерации мозжечка в качестве потенциальных средств патогенетической терапии. Подобная цель и вытекающие из нее задачи исследования определяют актуальность исследования.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые на нескольких экспериментальных моделях общих полиглутаминовых и оптогенетических моделей, а также частных моделях спиноцеребеллярной атаксии 1 типа установлены эффекты от повреждения mGluR1-зависимого пути передачи сигналов в клетках Пуркинье в виде нарушения их морфологии и синаптической пластичности. Впервые изучен вклад транспортёра глутамата EAAT1 в эксайтотоксичность в астроцит-опосредованных моделях нейродегенерации мозжечка. Следует особенно отметить часть работы, связанную с разработкой подходов к патогенетической коррекции полиглутаминовых атаксий в моделях грызунов. В частности, впервые была применена генная терапия и терапия стволовыми клетками для коррекции mGluR1-опосредованного пути передачи сигналов. Данные подходы позволили восстановить не только морфологию клеток коры мозжечка, но и значительно уменьшить атаксию у данных животных. Успешное применение таких препаратов, как баклофен и мемантин для коррекции нейродегенеративного процесса и атаксического синдрома позволяет провести клинические исследования и транслировать наработки наработки в неврологическую практику.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в расширении имеющихся представлений о патологическом процессе при полиглутаминовых атаксиях. Данные состояния рассматриваются автором в

контексте большой группы болезней накопления со сходными патогенетическими нарушениями, но не лишёнными своих особенностей. Более подробно приведены и обоснованы сходства различных типов атаксий на патогенетическом уровне, таких как СЦА1, 3 и 7 типов. В частности, рассмотрены общие функции атаксинов, заключающейся в коактивации экспрессии генов, и их влияние на рост и развитие нейронов, а также на формирование синаптической пластичности. С другой стороны, предложенная концепция общего патогенеза полиглутаминовых атаксий рассматривается как частный случай нейродегенеративного процесса. В исследовании обосновано положение, что нарушение астроцитарного звена является агрессивным фактором, усугубляющим течение полиглутаминовых атаксий.

Результаты экспериментальной части диссертационной работы, выполненной на лабораторных животных, являются продолжением теоретических исследований. Так, на трансгенных СЦА1, СЦА3 животных и нокаутных RoR α животных, показаны общие функции атаксинов 1 и 2. Сходные патологические процессы у грызунов с астроцит-опосредованной нейродегенерацией коры мозжечка доказывают важную роль астроцитов в развитии полиглутаминовых атаксий.

Эксперименты по коррекции выявленных звеньев патогенеза при полиглутаминовых атаксиях обосновывают необходимость применения описанных автором терапевтических подходов для лечения больных с данными состояниями.

Выводы и практические рекомендации обоснованы и имеют важное значение как для теоретической науки и для реальной клинической практики. Результаты диссертационной работы внедрены в научный процесс НИИ молекулярной медицины и патобиохимии «Красноярского медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы

как научная основа для дальнейших доклинических исследований в направлении терапии полиглутаминовых заболеваний. Результаты, полученные в ходе исследования фармакологических агентов (баклофен и мемантин), могут быть использованы для проведения клинических исследований на больных с полиглутаминовыми заболеваниями.

Оценка содержания диссертации и ее оформления

Диссертация изложена в классическом стиле на 346 страницах, главы логично перетекают друг в друга, материал дополнен таблицами и рисунками - создается впечатление о большой вовлеченности диссертанта в проведенное исследование. Научная работа иллюстрирована 115 рисунками, 19 таблицами, название темы диссертации соответствует поставленной цели и задачам исследования.

Во **введении** обосновывается актуальность выбранной темы, новизна и научно-практическая значимость исследования, сформулированы цель и задачи исследования, содержатся данные о реализации и апробации материалов диссертации, имеются сведения о структуре диссертационной работы и об основных публикациях диссертанта.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором автор описал заболеваемость и распространённость полиглутаминовых атаксий, а также дал полное описание патологического процесса от генетических нарушений до сложных нейронных взаимодействий, лежащих в основе атаксического синдрома, и современных терапевтических подходов к данному состоянию. В рассматриваемой главе содержатся данные о влиянии атаксинов на транскрипцию витальных генов, нарушение путей передачи сигналов и рассматриваются и влияние их на рост и развитие нейронов. В итоге написания данной главы, автором были сделаны выводы о том, что все полиглутаминовые атаксии имеют схожие патогенетические процессы и к ним могут быть применены схожие терапевтические подходы. Во **второй главе** описаны использованные методы исследования: иммуногистохимические, электрофизиологические, генетические и статистические. Подробно описаны

протоколы экспериментов на животных, культивирования клеток и изготовления векторных конструкций. В **третьей главе** Представлены основные полученные данные. Материал, полученный от более 11 моделей животных и использован для выявления общих аспектов патогенеза полиглутаминовых атаксий. Это основная глава, раскрывающая положения, выносимые на защиту. В данной главе оценено влияние мутантных полиглутаминовых белков, а более детально, атаксина 1, на морфологию клеток Пуркинье и глии Бергмана, на синаптическую пластичность, обучение модельных животных и развитие у них атаксии. Во второй части данной главы представлены терапевтические подходы, влияющие на звенья патогенеза полиглутаминовых атаксий.

Четвёртая глава – это обсуждение результатов подводит итог всем выполненным исследованиям. В данной главе полученные экспериментальные данные обобщаются в виде графических схем нарушения путей передачи сигналов при нейродегенерации мозжечка, приводится дополненная схема патогенеза полиглутаминовых атаксий.

Диссертация завершается **7 выводами**.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Работа выполнена на большом количестве моделей животных, описывающих разные аспекты патогенеза полиглутаминовых атаксий. Влияние молекулы mGluR1 на морфологию нейронов, обучение и развитие атаксии у данных животных доказано с помощью большого количества методов. Основные и промежуточные результаты, научные положения логично документированы рисунками и таблицами. Представленный анализ полученных результатов, подробность их описания, корректная и подробная статистическая обработка материала, а также доскональный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как обоснованные.

Личный вклад диссертанта и наиболее значимые результаты

Личное участие автора осуществлялось на всех этапах работы: построения гипотез, создания моделей животных, исследования их поведения и молекулярных механизмов *in vitro*. Наиболее значимым результатом является разработка общих подходов к лечению полиглутаминовых атаксий га моделях животных. В большинстве работ автор является первым либо корреспондирующим автором, что показывает его личный вклад в проведение и дизайн экспериментов. Автор докладывал промежуточные результаты исследования на конференциях, форумах, симпозиумах, заседаниях научных обществ. Его исследования получили финансовую поддержку такими научными фондами, как РФФИ и РФФИ.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати, в том числе в изданиях, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, определенных ВАК

Результаты диссертационного исследования отражены в 17 научных изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных результатов научной работы, цитируемых РИНЦ, из них 10 публикаций в иностранных журналах, индексируемых в международных базах данных.

Таким образом, структура диссертации, ее содержание и последовательность изложения материала характеризуются внутренним единством. Содержание автореферата отражает структуру, научные результаты и выводы диссертации. Текст автореферата и диссертации оформлен в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертации

Достоинствами диссертационной работы Шуваева А.Н. является глубокая теоретическая проработка материала, сочетание разных методов, которые непосредственно или косвенно показывают общие звенья патогенеза

полиглютаминовых атаксий. Также представлен широкий спектр терапевтических подходов: от генной терапии до фармакотерапии данных состояний.

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы нет. Как и любое актуальное, научно значимое исследование, работа Шуваева А.Н. в порядке дискуссии вызвала ряд вопросов:

1. Как определить потенциальный эффект мемантина и баклофена на двигательные функции пациентов со спиноцеребеллярными атаксиями, если у них невозможно провести гистологические и электрофизиологические исследования, представленные в работе на животных?

2. Насколько перспективным являются описанные нетрадиционные пути введения препаратов (интратекальный путь введения стволовых клеток и внутривенное введение вирусных конструкций) при нейродегенеративных поражениях мозжечка и, в частности, при полиглютаминовых болезнях?

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Шуваева Антона Николаевича «Клеточные и молекулярные механизмы развития полиглютаминовых атаксий и патогенетические принципы их коррекции», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в виде обоснования научной концепции по коррекции общих звеньев патогенеза полиглютаминовых атаксий, имеющее важное теоретическое и социально-экономическое значение, что соответствует требованиям п. 9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации от 28.08.2017 г. № 1024.), а её автор, Шуваев Антон Николаевич, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских

наук по специальностям: 3.3.3. – патологическая физиология, 1.5.22. –
клеточная биология.

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой генетики неврологических
болезней Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

 /С.С. Никитин/

«01» февраля 2024 года

Подпись доктора медицинских наук С.С. Никитина заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова», к.м.н.





Е.С. Воронина

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-
генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1. Тел. +7 (499)612-86-07; (499) 320-61-40
Адреса электронной почты:
dpo@med-gen.ru