

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Федотовой Анны Алексеевны,**  
**на тему: «Особенности кальциевого и метаболического ответов астроцитов мышцы на**  
**локомоцию»**  
**по специальности 1.5.24 – Нейробиология**

Работа Федотовой А.А. выполнена в Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук и на кафедре высшей нервной деятельности биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова под руководством доктора биологических наук, член-корреспондента РАН Семьянова Алексея Васильевича.

**Актуальность темы исследования и научная новизна работы**

Диссертация посвящена актуальной проблеме – изучению активности мозга мышцы при локомоции с учетом взаимодействия трех компонентов – нейронов, астроцитов и кровеносных сосудов. Соискателем получены новые результаты, некоторые из которых являются открытиями. К открытиям следует отнести очень грамотно проведенное исследование пространственно-временной динамики  $Ca^{2+}$ -активности астроцитов в коре мозга мышцей при локомоции. В данном разделе работы соискателем предложен и обоснован экспериментальный подход, основанный на воспроизводимости паттернов  $Ca^{2+}$ -сигналов астроцитов от эпизода к эпизоду локомоции. Данный подход позволит в дальнейшем детально исследовать нейрон-глиальные взаимодействия на молекулярном уровне и в связи с паракринной регуляцией активности сетей мозга. Анне Алексеевне удалось с применением ультрасовременных методов регистрации и обработки данных зарегистрировать  $Ca^{2+}$ -осцилляторную активность астроцитов в *in vivo* модели, что является, несомненно, открытием. В целом, Федотовой А.А. проведено комплексное и разноплановое исследование с применением комплекса современных биофизических и математических методов в *in vivo* модели, позволивших детально проанализировать особенности  $Ca^{2+}$ -сигналов различных типов клеток соматосенсорной коры мозга и гиппокампа при физических нагрузках у мышцей.

В разделах «Введение» и «Литературный обзор» автор логично подводит базу к своим исследованиям. В работе приведен обзор современных и актуальных литературных данных о роли и функциях астроцитов в нейротрансмиссии. Особо хочу отметить подраздел «Связь  $Ca^{2+}$  активности в астроцитах с морфологией», в котором соискатель обсуждает важный аспект глиальной биологии и вводит читателя в курс актуальной

проблемы классификации астроцитов на подтипы. Анной Алексеевной подробно проанализированы *in vivo* модели исследований астроцитарной  $\text{Ca}^{2+}$  активности, которые учитывают современные подходы применения генетических конструкций и оптогенетики, а также указаны ограничения имеющихся методов. В разделе «Обзор литературы» четко и грамотно показано современное состояние исследований в теме нейрон-астроцитарных взаимодействий, указаны нейро- и глиотрансмиттеры, рецепторы, определяющие данные взаимодействия. Однако, для данного, очень важного раздела, следовало бы представить схему нейрон-астроцитарных взаимодействий, учитывающей активацию  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнальной системы. Тем не менее, Обзор литературы хорошо иллюстрирован, соискатель уверенно владеет материалом, представленные рисунки являются авторскими, созданными на основе анализа многих литературных источников с указанием авторов работ, использованных в подготовке иллюстраций. В конце данного раздела автор указывает на имеющиеся пробелы в области исследований, методические ограничения и подводит читателя к вопросам, которые будут решены в представленной диссертации.

Раздел «Материалы и методы» написан идеально. Содержит подробное описание генетических конструкторов, применяемых для исследования. Математические и статистические методы описаны на высочайшем уровне, разработаны оригинальные плагины для анализа изображений. Данный раздел диссертации отдельно может быть использован как техническое руководство для исследователей.

Раздел «Результаты и обсуждение» написан грамотно, прекрасно иллюстрирован, легко читается и полностью соответствует поставленной цели и задачам. Представлены результаты по измерению  $\text{Ca}^{2+}$ -динамики в астроцитах и нейронах в состоянии покоя и при эпизодах локомоции. Полученные на модели *in vivo* серии флуоресцентных изображений проанализированы с помощью современных пакетов программ с использованием авторских алгоритмов обработки.  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналы клеток проанализированы не только по стандартным характеристикам (амплитуда, ширина фронта повышения  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), но и разделены на популяции (введены такие характеристики  $\text{Ca}^{2+}$ -динамики как площадь и плотность  $\text{Ca}^{2+}$ -сегментов, их отношение, задержки в генерации  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов и прочее). Введенные новые параметры «поведения»  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнальной системы клеток мозга позволили соискателю детально описать взаимосвязь локомоции с взаимодействиями астроцитов и нейронов на уровне  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации. Благодаря проведенным исследованиям удалось установить, что на субклеточном уровне  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  повышается во время локомоции неодновременно в разных морфологических компартментах астроцита. Сигнал начинается в астроцитарных отростках и распространяется к коме. В коме

астроцита происходит интеграция  $\text{Ca}^{2+}$  сигнала, его усиление и генерация  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  осцилляций. На сегодняшний день таких результатов практически не представлено в современной литературе, что указывает на их оригинальность и научную новизну.

В работе также анализируются  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналы нейронов и астроцитов при локомоции, что позволило четко установить различия в  $\text{Ca}^{2+}$ -ответе этих двух типов клеток мозга. Четко доказано, что астроциты отвечают  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналами на локомоцию с задержкой и их ответ при последующей локомоции снижается. Тогда как нейроны генерируют  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналы сразу же на эпизод локомоции без задержки. Механизмы таких различий нуждаются в дальнейшем изучении, но соискатель очень профессионально обсуждает возможные пути своих дальнейших исследований в этом направлении и показывает связь своих результатов с имеющимися в литературе.

Также Федотовой А.А. удалось исследовать динамику оксигенации крови при эпизодах локомоции и установить, что парциальное давление кислорода повышается в венах коры мозга во время эпизодов локомоции и это поступление кислорода является избыточным, что препятствует развитию гипоксии.

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

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Результаты исследования детально описаны с применением серьезного математического арсенала методов. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в работе, полностью обоснованы и логично вытекают из результатов и их обсуждения.

Полученные результаты позволят глубже понять когнитивные механизмы в мозге. Представленные данные расширяют существующие представления о механизмах нейрон-глиальных взаимодействий. Результаты данной работы открывают возможности для дальнейшего изучения молекулярных и клеточных механизмов связи локомоции с активацией  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнальной системы нейронов и астроцитов. Разработанные в ходе выполнения исследований методы и подходы представляют огромный интерес для специалистов в области нейробиологии.

Данные диссертации представляют интерес для Московского Государственного Университета им. Ломоносова (Биологический факультет), Санкт-Петербургского Государственного Университета, Института Биофизики Клетки РАН, Института Молекулярной Биологии РАН, Института Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Института Биоорганической Химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

Диссертационная работа содержит достаточное количество экспериментальных данных, имеет пояснения, рисунки, таблицы, подробные обсуждения. Написана технически квалифицированно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом имеются выводы. Основные этапы работы, выводы и результаты представлены в автореферате.

По теме диссертации опубликовано 4 статьи в ведущих журналах, индексируемых аналитическими базами Scopus или Web of Science. Научные результаты представлены на международных и всероссийских конференциях.

### **Замечания по диссертационной работе**

У меня имеется замечание к разделу «Научная новизна», где указано: «Впервые проведено комплексное исследование изменения свойств нейронов, астроцитов и кровеносных сосудов соматосенсорной коры мышцы при локомоции». Термин **свойств** или не применим в данном случае (следовало бы употреблять, например, термин «физиологических характеристик») или **свойства** должны быть конкретно определены и указаны.

### **Вопросы по диссертации**

1. Автором установлена временная задержка реакции астроцитов, с последующим нарастанием фронта  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнала в цитозоле и спадом  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  после эпизода локомоции. Соискатель обсуждает данный феномен в ключе диффузии сигнальных молекул через щелевые контакты. Как высвобождение АТФ астроцитами во время локомоции может быть вовлечено в генерацию  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналов? Какова роль глиотрансммиттера – АТФ в  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации клеток коры мозга при локомоции.
2. Схожим образом, роль лактата соискателем обсуждается только в разделе «Различия между метаболическими ответами астроцитов и нейронов соматосенсорной коры на локомоцию». Возможно ли участие лактата в генерации или поддержании  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналов клетками коры мозга при локомоции (например, в роли трансмиттера)?

### **Заключение**

Работа выполнена на высоком профессиональном уровне. Представленные в работе исследования достоверны, выводы и рекомендации обоснованы. Считаем, что работа Федотовой А.А. «Особенности кальциевого и метаболического ответов астроцитов мышцы на локомоцию» отвечает всем требованиям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Работа оформлена согласно приложениям №5 и №6 Положения о

диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Автор диссертационной работы Федотова А.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24 – Нейробиология.

Официальный оппонент:

**Туровский Егор Александрович**

Доктор биологических наук, Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИБК РАН), ведущий научный сотрудник, руководитель группы молекулярных и клеточных механизмов канцерогенеза.

142290, г. Пушкино Московской области, Институтская, 3, ИБК РАН

Телефон: + 7(4967)-739-162

Электронная почта:

10 ноября 2023 г.

Е.А. Туровский

*Подпись Туровского Е.А. удостоверяю.*

*Ученый секретарь ИБК РАН (Шабунин Р.С.)*

