

**ОТЗЫВ официального оппонента  
о диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Тяглик Алисы Борисовны  
на тему: «Роль метаболической активности и морфологической  
пластичности астроцитов в мозге»  
по специальности 1.5.24. Нейробиология**

Нервная система млекопитающих представляет собой сложно организованную систему, состоящую из специализированных органов, обеспечивающих управление и контроль всех функций организма, а также восприятие и обработку сигналов внешней среды. Мозг человека содержит около 90 миллиардов нейронов и примерно такое же количество глиальных клеток. Исторически сложилось так, что в прошедшем столетии интенсивно исследовались функциональные и морфологические свойства нейронов, а изучение глии было, в общем, на втором плане. Только в этом тысячелетии стали активно изучаться различные типы глиальных клеток и их роль в работе мозга.

Одним из основных типов глии, являются астроциты, играющие ключевую роль в формировании гематоэнцефалического барьера, в энергообеспечении нейронов и обладающие метаболической и морфологической пластичностью. Однако, большинство данных о метаболических морфологических характеристиках астроцитов получены в условиях *in vitro*, не обеспечивающим возможность определить характер и свойства сложных межклеточных взаимодействий в живом организме.

Поэтому работа Тяглик А.Б., целью которой было выявление морфологических и метаболических особенностей астроцитов мозга мышей в условиях *in vivo* в состоянии покоя и при различных функциональных нагрузках, является несомненно актуальной и важной.

Диссертационная работа представляет собой тщательно оформленный труд, построенный, в общем, традиционным образом и включает: Оглавление, Список сокращений, Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы, Список цитируемой

литературы, включающий около 200 источников, а также более 50 рисунков и таблицы. Список источников впечатляет и указывает на эрудированность и глубокие знания автора в исследуемой области.

В главе "Обзор литературы" изложены современные представления о метаболических особенностях работы клеток мозга, включая описание путей метаболизма глюкозы в нейронах и астроцитах. Автор подробно обсуждает особенности строения дыхательной цепи астроцитов и нейронов, роль активных форм кислорода, морфологические особенности митохондрий, их динамическую реорганизацию, а также структурную организация астроцитов и их физиологическое значение. В общем, обзор представляет собой обширный анализ современных представлений о метаболической роли и функциональном значении астро-нейрональных взаимодействий в мозге млекопитающих. Прочтение обзора, опирающегося на большой объем современных экспериментальных и теоретических работ, указывает на высокую научную эрудицию автора.

Глава "Материалы и методы" состоит из нескольких разделов, в которых подробно описаны использованные методические и аналитические походы. О высоком научно-методическом уровне выполненной работы и полученных автором результатов, свидетельствует применение широкого спектра современных методов от стереотаксического введения вирусов в мозг животных, флуоресцентной регистрации с использованием мультифотонного микроскопа, до *in vivo* анализа спектров комбинационного рассеяния и проведения поведенческих тестов. Это указывает на высокие экспериментальные качества диссертанта.

В главе "Результаты и обсуждение" подробно изложены все этапы исследовательской работы. В первом разделе представлено описание нового подхода, позволяющего оценить без дополнительного окрашивания редокс-состояние электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), степень оксигенации сосудов и белково-липидный состав идентифицированных клеток мозга у животных в разных фазах поведения. Важным представляется разработка подходов для

определения типа сосудов и количественной оценки степени оксигенации крови у животных. Автор приводит данные, указывающие на то, что во время локомоции, область соматосенсорной коры снабжается кислородом, и питательными веществами за счет усиления кровоснабжения, опосредованного расширением артериол в большей степени, чем венул.

Второй раздел "Результатов" посвящён анализу распределения митохондрий в нейронах и астроцитах. Автором не обнаружено достоверных различий в распределении и морфологических характеристиках митохондрий астроцитов и нейронов *in vivo*.

В последующих разделах представлены результаты анализа редокс-состояния электрон-транспортной цепи нейронов и астроцитов при гипергликемии *in vivo* и на диете с высоким содержанием жира. Автор показывает, значительное увеличение в содержании липидов и относительного количества восстановленных цитохромов в астроцитах, но не в нейронах при высокожировой диете. Это указывает на важные различия в процессах метаболизма нейронов и астроцитов. В общем, результаты подробно описаны и хорошо проиллюстрированы. В ходе описания автор обсуждает полученные экспериментальные данные и удачно связывает их с существующими литературными данными для построения гипотез и объяснения механизмов зарегистрированных феноменов.

В разделе "Заключение" кратко обобщаются все полученные данные, приведена общая схема, которая отражает основные полученные результаты. Сформулированные выводы соотносятся с поставленными задачами, являются обоснованными и полностью соответствуют полученным результатам.

Следует отметить новизну и оригинальность исследования.

В представленной работе был разработан и использовался метод микроспектроскопии комбинационного рассеяния (КР), который позволил оценить эффективность работы электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий астроцитов и нейронов. Впервые, в условиях *in vivo* было

установлено, что дыхательная цепь астроцитов в состоянии покоя животных заполнена электронами в большей степени, чем в нейронах; во время локомоторной активности заполнение ЭТЦ электронами увеличивается в случае астроцитов, и снижается у нейронов. Важным следствием переполнения дыхательной цепи астроцитов электронами является продукция перекиси в период локомоторной активности, этот феномен впервые был продемонстрирован для области соматосенсорной коры *in vivo*.

Автором было впервые показано, что различия в работе дыхательной цепи митохондрий астроцитов и нейронов не связаны с особенностями клеточного распределения этих органелл. Также, в работе впервые было установлено, что увеличение жиров в пище и индукция гипергликемии оказывает разноплановое влияние на метаболизм астроцитов и нейронов. Так, на окислительное фосфорилирование астроцитов в большей оказывает влияние жиры, а на окислительный метаболизм нейронов — глюкоза.

В общем, основные положения, выносимые на защиту, в полной мере отражают новизну полученных результатов и являются обоснованными.

Следует подчеркнуть, что результаты диссертационной работы Тяглик А.Б. имеют важное фундаментальное и прикладное значение.

Впервые установлены закономерности работы дыхательной цепи астроцитов и нейронов при различных поведенческих состояниях животного. Показана роль митохондрий астроцитов в сигнальных процессах, опосредованных продукцией активных форм кислорода (АФК), в частности перекиси водорода, в работе подчеркивается важное физиологическое значение наработки перекиси в астроцитах. В работе была выявлена сигнальная роль ЭТЦ митохондрий астроцитов, зависящая от субклеточного компартмента. Это указывает на то, что метаболические процессы и морфологическая специализация астроцитов тесно взаимосвязаны, что в свою очередь играет центральную роль в поддержании астро-нейроваскулярной единицы.

Важное прикладное значение имеют результаты экспериментов о метаболических особенностях работы астроцитов и нейронов при гипергликемии и высокожиевой диете, на основе которых могут быть разработаны и использованы в практике диетарные рекомендации для пациентов с диабетом и метаболическим синдромом.

Представленные результаты работы бесспорно являются воспроизводимыми и достоверными. В ходе выполнения диссертационного исследования были разработаны новые подходы для оценки работы дыхательной цепи с клеточно-специфичным и с субклеточным разрешением, разработан подход по количественной оценки степени оксигенации крови активных областей мозга в реальном времени, результаты полученные с помощью новых методических разработок согласуются с литературными данными о метаболических особенностях работы астроцитов и нейронов, а также существенно дополняют существующие данные о биоэнергетике мозга.

В работе широко представлены не только оригинальные методы исследования, но и классические подходы нейробиологии, включая поведенческие тесты, специализированные диеты, иммуногистохимическое флуоресцентное окрашивание, стереотаксические операции по доставке вирусных векторов, кодирующих маркерные белки, биосенсоры и конструкции приводящие к генетическому нокадуну структурных белков астроцитов. Наряду с новыми экспериментальными разработками в работе представлены оригинальные методические подходы по анализу данных оптической и спектральной визуализации, в частности были использованы и улучшены методики автоматической сегментации митохондрий, которые впервые позволили провести сравнительное сравнение состояния митохондриальной сети в нейронах и астроцитах в условиях *in vivo*.

Важно отметить, что большинство экспериментальных данных были получены в условиях *in vivo*, с учетом этого статистический анализ был проведен с использованием корректных параметрических и непараметрических тестов. Значимость и воспроизводимость полученных

результатов и обоснованность сформулированных выводов исследования не подвергается сомнению.

Основные полученные результаты диссертационной работы были опубликованы в ряде научных журналов, которые входят в базы данных Scopus и Web of Science. Стоит отметить, что апробация результатов исследования была широко представлена на различных ведущих международных научных конференциях, что позволило научному сообществу в полной мере ознакомиться с работой автора.

Несмотря на прекрасное впечатление, которое производит работа Тяглик А.Б., имеется несколько замечаний и вопросов:

- стр.73. Не ясно, в каких условиях получены спектры флуоресценции на рис.14
- стр. 87, рис.25. Экспрессия HyPer7 сенсора в митохондриях должна распределяться по всему телу клетки. Судя по представленной шкале, диаметр тел большинства нейронов примерно 5 мкм. Какой был возраст животных, используемых в этих опытах?
- стр.91, рис.30. Из рисунка следует, что общие площади органелл и ветвей митохондрий в нейронах существенно превышают эти значения в астроцитах. Однако в тексте утверждается: "...полученные данные указывают на похожее распределение количества митохондрий в астроцитах и нейронах". Как понимать это кажущееся несоответствие?
- стр. 122-124. Эксперименты со снижением экспрессии белка эрзина очень интересны и важны для выяснения механизмов функционирования нейро-глио-васкулярного комплекса. Показано, что объемная доля отростков астроцитов при ингибиции эрзина снижается (Рис.54). Однако, при рассмотрении рис. Рис. 51, иллюстрирующего примеры клеток в поле CA1 гиппокампа, возникает ощущение, что размеры клеток при ингибиции эрзина больше, чем в контроле. Возможно, это связано с тем, что шкалы на рис. немного различаются. Проводили ли

сравнительный анализ площади сомы клеток, без отростков, в контроле и при ингибиции эрзина?

- стр.130. Финальная схема является очень важной, но её рассмотрение несколько затруднительно. Следовало бы изменить иллюстрацию нейронов и астроцитов, а также надписи на рисунке.
- Слишком много сокращений, некоторых нет даже в списке сокращений. Некоторые сокращения, например, ЖК (жирные кислоты), ДЦ (дыхательная цепь) или ЛК (липидные капли) совсем не оправданы. Полное использование слов увеличило бы объём диссертации не больше, чем на одну страницу, но улучшило бы восприятие текста.
- В тексте много англицизмов. Например, такие слова, как "сатурация" или "вазодилатация" имеют ясные и краткие эквиваленты в русском языке.

Приведённые выше замечания и вопросы не носят принципиального характера и не уменьшают значимость полученных результатов и не снижают её высокую оценку.

### **Заключение**

Диссертационная работа Тяглик А.Б. исследует метаболические взаимодействия астро-нейро-васкулярной природы и их физиологическую роль в межклеточной сигнализации. В диссертационном исследовании Тяглик А.Б. описаны морфологические особенности астроцитов, которые обеспечивают метаболическую поддержку нейронов в условиях *in vivo*. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.24. Нейробиология (по биологическим наукам), в частности таким ее направлениям: среда, окружающая нейроны, нейроглия и межклеточная передача сигналов. а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете

имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель, Тяглик Алиса Борисовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24. Нейробиология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, почётный профессор,  
главный научный сотрудник Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),  
Центр изучения молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний, лаборатория молекулярной клеточной биологии и оптогенетики, Брежестовский Пётр Дмитриевич

10 марта 2025

Специальность, по которой защищена докторская диссертация: 03.00.13 – «Физиология человека и животных».

Адрес места работы:

141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9

Рабочий e-mail:

рабочий телефон:

Подпись сотрудника удостоверяю:

ЗАВЕРЯЮ  
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ  
УЧЕНОГО СОВЕТА МФ  
ЛГ ЕВДЕЕВА