

**ОТЗЫВ**

**официального оппонента Шпакова Александра Олеговича на**  
**диссертацию Хилажевой Елены Дмитриевны «Роль метаболических**  
**механизмов в развитии нейровоспаления при старении**  
**(экспериментальное исследование)», представленную на соискание**  
**ученой степени кандидата биологических наук по специальности –**

**1.5.24 Нейробиология**

**Актуальность темы диссертационного исследования**

Актуальность настоящего исследования обусловлена глобальным демографическим сдвигом — ростом продолжительности жизни и, как следствие, стремительным увеличением числа людей, страдающих возраст-ассоциированными нейродегенеративными заболеваниями. Несмотря на успехи в увеличении продолжительности жизни, значительная часть людей старшего возраста сталкивается со снижением когнитивных функций, которое существенно ухудшает качество их жизни. На сегодняшний день не существует достаточно эффективных и надежных методов профилактики и лечения возрастного когнитивного дефицита, что делает поиск новых терапевтических мишеней для лечения возраст-ассоциированной нейродегенерации важной задачей современной медицины.

В последние годы все больше данных указывает на центральную роль хронического низкоинтенсивного воспаления (inflammaging) в патогенезе нейродегенерации. Особое внимание здесь привлекает NLRP3 инфламмасома, чья активация лежит в основе устойчивого провоспалительного состояния мозга и напрямую связана с такими заболеваниями, как болезни Альцгеймера и Паркинсона. При этом все чаще подчеркивается тесная взаимосвязь между метаболическими нарушениями (в том числе, церебральной инсулиновой резистентностью) и нейровоспалением. Однако клинически значимые стратегии, направленные на разрыв этого порочного круга, пока отсутствуют.

Таким образом, разработка подходов, основанных на фармакологической и(или) метаболической модуляции активности NLRP3 инфламмасомы, может стать важным шагом для создания терапии, способной не только замедлить, но и предотвратить возрастные когнитивные нарушения. В этом свете представленное исследование обретает не только научную, но и значимую социально-медицинскую ценность.

### **Достоверность и новизна результатов исследования**

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием общепринятых и методологически обоснованных подходов в области нейробиологии, включая генетически модифицированные модели (мыши с нокаутом *Nlrp3*), фармакологическую модуляцию NLRP3 инфламмасомы, стандартные нейроповеденческие тесты, иммуногистохимический и иммуноцитохимический анализ. Цель работы сформулирована корректно, задачи исследования в полной мере соответствуют поставленной цели. Все экспериментальные данные подвергнуты адекватной, тщательной статистической обработке, и потому не вызывают сомнений.

Научная новизна работы заключается в следующем:

Впервые показано, что NLRP3 инфламмасома выступает в качестве функционального сенсора метаболических нарушений при старении и регулирует как когнитивные функции, так и социальное поведение.

Впервые продемонстрировано, что генетическая или фармакологическая инактивация NLRP3 подавляет развитие сенесцентного секреторного фенотипа (SASP) в стареющем мозге и сопровождается снижением активности ключевых протеинкиназ метафламмасомного комплекса — PKR, IKK $\beta$ , JNK.

Впервые установлена прямая взаимосвязь между ингибированием NLRP3 и сохранением когнитивной функции у стареющих животных, что подтверждает терапевтический потенциал данной мишени.

Впервые предложена интегративная модель патогенеза когнитивного старения, в центре которой находится NLRP3 инфламмасома как молекулярный узел, объединяющий метаболическую дисрегуляцию, клеточную сенесценцию и нарушения нейропластичности.

Таким образом, результаты диссертационного исследования являются достоверными, воспроизводимыми и вносят значимый вклад в понимание механизмов развития возраст-ассоциированной нейродегенерации.

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

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, логически вытекают из полученных экспериментальных результатов и в полной мере соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Автор опирается на современные представления о молекулярных механизмах старения, использует методологически корректные и общепринятые в нейробиологии подходы, а также использует методы статистической обработки, обеспечивающие достоверность полученных данных. Согласованность данных, полученных на разных уровнях исследования, подтверждает высокую степень обоснованности представленных выводов.

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на XXIV съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023 г.); на Международной конференции "Социальный мозг: профилактика и реабилитация негативных стрессовых воздействий" (Красноярск, 2023 г.); а также на Конференции с международным участием RUSNEUROCHEM (Санкт-Петербург, 2022 г.).

### **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По материалам диссертации опубликовано 9 работ, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в

которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи представлены в изданиях, индексируемых в международной базе цитирования (Scopus), 4 публикации – в сборниках материалов научных конференций.

### **Ценность для науки и практики результатов работы**

Научная ценность работы заключается в существенном расширении фундаментальных знаний о молекулярных механизмах старения мозга. Полученные результаты позволяют перейти от изучения изолированных процессов к системному пониманию нейродегенерации как интегративного нарушения, связывающего когнитивные, поведенческие, воспалительные и метаболические аспекты. С практической точки зрения, исследование предоставляет экспериментальное обоснование для разработки терапевтических стратегий, направленных на фармакологическую модуляцию NLRP3 инфламмасомы с целью профилактики и коррекции возраст-ассоциированных когнитивных дисфункций, включая ранние стадии нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера. Результаты могут быть использованы при создании нейропротективных препаратов, а также при оценке их эффективности для поддержания функциональной пластиности и межклеточной коммуникации в стареющем мозге.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Представленный автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, ее основные положения и выводы.

### **Оценка структуры и содержания диссертации**

Диссертация Хилажевой Е.Д. изложена на 181 странице и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования,

описание результатов и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы, состоящий из 265 отечественных и зарубежных источников.

Во введении автор обосновывает актуальность работы, анализирует степень разработанности темы исследования, формулирует цели и задачи исследования, определяет новизну, теоретическую и практическую значимость работы, излагает основные положения, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы» представляет собой лаконичный, структурированный и очень профессионально написанный обзор современных представлений о механизмах старения и нейродегенерации. Автор последовательно рассматривает как общие теоретические концепции старения — включая клеточную сенесценцию, митохондриальную дисфункцию, геномную нестабильность и хроническое низкоинтенсивное воспаление (inflammaging), так и их специфическую реализацию в ЦНС. Особое внимание уделено роли нейровоспаления как ведущего патогенетического фактора возраст-ассоциированного когнитивного снижения. В Обзоре литературы подробно освещены современные представления о взаимосвязи метаболических нарушений и воспалительного ответа в ЦНС. Автор детально анализирует концепцию «метафламмации» — метаболически опосредованного воспаления, вызываемого инсулиновой резистентностью, нарушением утилизации глюкозы и дисбалансом энергетического гомеостаза нейронов. В заключительной части главы обсуждаются перспективные подходы к терапевтической регуляции и модуляции активности NLRP3 инфламмасомы — как с использованием специфических ингибиторов (например, MCC950), так и через косвенное влияние на метаболические и окислительные пути.

В главе «Материалы и методы исследования» представлен дизайн исследования, описаны используемые в исследовании группы животных, методы поведенческого тестирования животных, получения органотипических культур гиппокампа и культур астроцитов и нейронов *in*

*vitro*, описаны лабораторные методы исследований и статистической обработки полученных данных.

Глава «Результаты исследования» полностью соответствует поставленным задачам. Результаты исследования демонстрируют центральную роль NLRP3 инфламмасомы в патогенезе возраст-ассоциированных нейродегенеративных изменений. Показано, что мышей с нокаутом *Nlrp3* сохраняются когнитивные функции и социальное поведение на уровне молодых животных; активация NLRP3 при старении сопровождается повышением уровней провоспалительных маркеров (IL-18, HMGB1), фосфорилированных киназ метафламмасомного комплекса (PKR, IKK $\beta$ , JNK) и признаками клеточной сенесценции, тогда как ее генетическая или фармакологическая (глибенкламид, МСС950) инактивация подавляет эти изменения. Дополнительно установлено, что острое воспаление, индуцированное LPS, также активирует NLRP3 и нарушает регуляцию глюкозного транспорта, а хроническая возрастная активация инфламмасомы коррелирует с признаками церебральной инсулиновой резистентности — снижением GLUT4 и повышением GSK3 $\beta$ . Полученные данные подтверждают, что NLRP3 инфламмасома выступает интегративным звеном между метаболической дисрегуляцией, нейровоспалением и клеточной сенесценцией, определяя тем самым её потенциал в качестве терапевтической мишени для профилактики когнитивного старения.

В главе «Обсуждение результатов» обобщены и проанализированы полученные результаты. Выводы основаны на полученных данных, соответствуют цели и задачам исследования.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Хилажевой Е.Д. нет. Однако по работе имеются ряд вопросов, в том числе носящих дискуссионный характер, а также технических замечаний.

## Вопросы

1. Ряд вопросов относятся к описанию инсулинового сигналинга в мозге и молекулярной природы центральной инсулиновой резистентности (стр. 42-45 и другие локации).

При обсуждении снижения чувствительности инсулиновой системы мозга к инсулину автор делает акцент на сериновом фосфорилировании IRS1-белка. При этом ускользают от внимания такие важные негативные регуляторы инсулинового сигналинга, как тирозиновые фосфатазы (PTP1B, TCPTP и др.), которые дефосфорилируют инсулиновый рецептор и IRS-белки и терминируют трансдукцию инсулинового сигнала в ЦНС и на периферии. Автор делает основной акцент на IRS-1 белке, но в ЦНС не менее важную роль в трансдукции инсулинового сигнала играет IRS-2 белок. В работе делается акцент на инсулин-зависимом глюкозном транспортере GLUT4, но в мозге для глюкозного транспорта большее значение имеет инсулиннезависимый путь, а GLUT4 функционирует только в некоторых отделах мозга. Наконец, системная инсулиновая резистентность при СД2 вовсе не означает развития центральной инсулиновой резистентности, тем более что избыточная продукция инсулина на периферии вовсе не приводит к гиперинсулинемии в мозге, поскольку при СД2 меняется транспорт через ГЭБ. Все это было бы желательно проанализировать и обсудить.

2. Автор отмечает крайне интересный факт, что экспрессия таких цитокинов, как TNF-alpha, интерлейкины-6 и -8, у Nlrp3-/- нокаутных мышей повышена и возрастает при старении, что указывает на активацию при выключении NLRP3 инфламмасомы независимых от нее путей нейровоспаления. Тем самым, изучая нокаутных мышей в сравнении с животными дикого типа можно составить представление о соотношении различных провоспалительных каскадов в ЦНС на различных стадиях онтогенеза. Более того вызванное генетическими, фармакологическими или метаболическими факторами ослабление или усиление одного провоспалительного пути должно неизбежно привести к компенсаторному усилинию или ослаблению других таких путей.

Каково мнение автора по этому поводу, оценивались ли взаимоотношения между NLRP3-опосредуемым и другими путями нейровоспаления, изучалось ли влияние на соотношение их активностей фармакологических агентов?

3. Стр. 143. Авторы пишут «В данном исследовании значимое увеличение экспрессии инсулиновых рецепторов было выявлено только при обработке клеток глибенкламидом, что подтверждает его стимулирующее действие на рецепторы инсулина. При этом не было выявлено эффекта влияния на экспрессию патологического IRS1, фосфорилированного по Ser314.» Но, как правило, гиперактивация инсулиновых рецепторов приводит к снижению их экспрессии, что показано и для мозга. То есть вывод о стимуляции инсулинового пути глибенкламидом не совсем обоснован. Данные самого автора о том, что не было повышения уровня фосфорилированных по серину форм IRS-1, это косвенно подтверждают.

### **Замечания**

1. На стр. 9 IRS1-белок оказался в ряду протеинкиназ, но к таковым он не относится, являясь трансдукторным белком инсулинового сигналинга.
2. На рисунке 3 (стр. 38) допущена ошибка – показана стимуляция глюкозой инсулинового рецептора, вместо глюкозы конечно же должен быть инсулин.
3. На странице 36 фрагмент текста включает ряд неточностей и некорректных упрощений: «Активация mTORC1 происходит с помощью питательных веществ и Akt, которые фосфорилируют TSC2 и ингибируют его. Пролонгированная активация mTORC1 в присутствии высокоэнергетической диеты ингибирует IRS через p70S6K, блокируя GLUTs внутри клеток, повышая уровень глюкозы в крови...». Так употребление множественного числа в 1-ом предложении предполагает, что питательные вещества фосфорилируют TSC2 (?), а во 2-ом предложении не понятна связь mTORC1 и высокоэнергетической диеты на обсуждаемом уровне функционирования сигнальных каскадов (?).

4. Не совсем корректно называть фосфорилированные по серину формы IRS1-белка патологическими – это вполне нормальная форма белка, транзиторно потерявшего вследствие фосфорилирования свою биологическую активность.
5. В фразе «Преобладание сериновой фосфорилляции над тирозиновой...» (стр. 39) используется необычный термин «фосфорилляция» вместо общепризнанного фосфорилирования, и это не совсем корректно. Кроме того, по тексту имеются, хотя и немногочисленные, опечатки и неудачные выражения, в большей степени в Обсуждении.

## **Заключение**

Диссертационная работа Хилажевой Елены Дмитриевны «Роль метаболических механизмов в развитии нейровоспаления при старении (экспериментальное исследование)» является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методологическом уровне, в ходе которой решена актуальная научная задача – показана фундаментальная роль NLRP3 инфламмасомы как ключевого медиатора сигнала метаболической опасности в регуляции возраст-ассоциированных поведенческих и молекулярных изменений, экспериментально обоснована эффективность как генетической, так и фармакологической модуляции ее активности для улучшения когнитивных функций при старении, что демонстрирует перспективы терапевтической коррекции возраст-ассоциированных когнитивных нарушений и возможностей нейропротекции.

Работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени

Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а ее автор, Хилажева Елена Дмитриевна, несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24 Нейробиология.

Официальный оппонент:

заведующий лабораторией молекулярной  
эндокринологии и нейрохимии,  
заместитель директора по научной работе  
Института эволюционной физиологии  
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
доктор биологических наук  
специальность 1.5.4. Биохимия (03.00.04 – биохимия),  
профессор

Шпаков Александр Олегович

24 ноября 2025 г.

Подпись доктора биологических наук, профессора  
Шпакова Александра Олеговича заверяю:



Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН  
194223, Россия, г. Санкт-Петербург, проспект Тореза, д. 44  
Телефон: +7 (812) 552-79-01  
Адрес электронной почты: [office@iephb.ru](mailto:office@iephb.ru)