

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Гуреева Артема Петровича на диссертацию Хилажевой Елены Дмитриевны «Роль метаболических механизмов в развитии нейровоспаления при старении (экспериментальное исследование)», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24 Нейробиология

Актуальность темы исследования

Актуальность исследования обусловлена необходимостью выявления ключевых молекулярных механизмов, лежащих в основе старения центральной нервной системы. В современных исследованиях NLRP3 инфламмасома рассматривается как ключевой элемент, интегрирующий метаболические, воспалительные и нейрональные сигналы. Несмотря на существенный прогресс в идентификации отдельных компонентов данной системы, функциональная взаимозависимость между ними остаётся не до конца изученной. В частности, требуют уточнения механизмы, связывающие метаболические нарушения, активацию NLRP3-инфламмасомы и снижение нейропластичности при когнитивном старении, а также отсутствуют комплексные экспериментальные модели, интегрирующие метаболические, воспалительные и нейрональные аспекты старения. Отсутствие интегративных экспериментальных моделей затрудняет разработку эффективных терапий возраст-ассоциированных когнитивных нарушений.

Представленная диссертационная работа направлена на расшифровку молекулярных механизмов, связывающих инсулинорезистентность, активацию метафламмасомного комплекса, NLRP3-опосредованное воспаление и снижение когнитивных функций. Исследование обладает высокой теоретической и практической значимостью: его результаты могут заложить основу для разработки превентивных и терапевтических стратегий, нацеленных на сохранение когнитивного здоровья в пожилом возрасте. Тема

диссертации актуальна, своевременна и соответствует приоритетным направлениям современной нейробиологии и геронтологии.

Достоверность и новизна результатов исследования

Достоверность результатов не вызывает сомнений и обеспечивается следующими ключевыми факторами:

1. Комплексной методологией. Для решения поставленных задач использован всесторонний экспериментальный подход, включающий методы поведенческого анализа, иммуногистохимии, конфокальной микроскопии, молекулярно-биологических исследований и работы с клеточными культурами *in vitro*. Взаимодополняемость методов позволяет независимо верифицировать полученные данные на разных уровнях — от изменения поведения до молекулярных взаимодействий.

2. Корректной статистической обработкой данных. Используемые методы статистического анализа, включая двухфакторный дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки для множественных сравнений, адекватны экспериментальному дизайну и позволяют делать обоснованные выводы о значимости наблюдаемых эффектов.

3. Воспроизводимостью данных. Результаты подтверждены на адекватном количестве биологических и технических повторностей, что отражено в описании материалов и методов.

4. Использованием адекватных моделей. Исследование проведено как на модели *in vivo* (мышь дикого типа и NLRP3-нокаутные мыши разных возрастных групп), так и на органотипических культурах гиппокампа и клеточных культурах *in vitro*. Модель LPS-индуцированного воспаления дополнительно подтверждает причинно-следственную связь между воспалением и активацией изучаемых каскадов.

Научная новизна работы заключается в следующих ключевых аспектах:

Впервые в рамках единого исследования установлена роль NLRP3-инфламмосомы как центрального интегрирующего узла, связывающего

метаболические нарушения, нейровоспаление и дефицит нейропластичности при старении мозга. Работа выходит за рамки изучения корреляций и устанавливает функциональные причинно-следственные связи внутри этой триады.

Получены принципиально новые данные о двойственной роли NLRP3 в регуляции поведения. Показано, что, с одной стороны, делеция гена *Nlrp3* предотвращает возраст-зависимое нарушение сигнальной памяти, а с другой — сопровождается снижением социальной активности. Это открытие вносит существенный вклад в понимание сложной и многогранной функции инфламماسомы в ЦНС, выходящей за рамки классического провоспалительного ответа.

Проведено прямое сравнительное исследование эффективности генетической инактивации и фармакологической блокады NLRP3. Полученные данные имеют не только фундаментальное, но и важное прикладное значение, так как демонстрируют специфичность действия селективного ингибитора MCC950 и раскрывают различия в спектрах эффектов генетического и фармакологического вмешательства.

Впервые на комплексной экспериментальной модели показано, что блокада NLRP3 (как генетическая, так и фармакологическая) не только подавляет нейровоспаление, но и напрямую улучшает когнитивные функции у стареющих животных, что подтверждает ее непосредственную роль в патогенезе когнитивного старения, а не просто ассоциацию с ним.

Экспериментально подтверждена связь между активацией NLRP3 и развитием метаболических нарушений в мозге, в частности, инсулинорезистентности, что проявляется в изменении экспрессии ключевых маркеров (GLUT4, GSK3 β) и киназ метафламмасомного комплекса (PKR, IKK β , JNK).

Таким образом, представленные в диссертации результаты обладают безусловной достоверностью и высокой степенью научной новизны, внося значительный вклад в развитие нейробиологии старения и открывая новые

перспективы для терапевтической коррекции возраст-ассоциированных патологических состояний.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Научные положения и выводы, представленные в диссертационной работе, отличаются высокой степенью достоверности и убедительности. Комплексный методологический подход, включающий параллельное использование генетических (нокаутные животные) и фармакологических моделей, обеспечивает взаимную верификацию получаемых данных и позволяет утверждать о причинно-следственной связи между активностью NLRP3-инфламмосомы и развитием изученных нарушений. Объём представленного исследования полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Основные положения диссертации и выводы отражают решение поставленных задач, соответствуют полученным результатам собственных исследований.

Основные результаты работы были доложены на конференциях: XXIV съезд физиологического общества им. И. П. Павлова (г. Санкт-Петербург, 2023 г.), международная конференция «Социальный мозг: профилактика и реабилитация негативных стрессовых воздействий» (г. Красноярск, 2023 г.), конференция с международным участием RUSNEUROCHEM (г. Санкт-Петербург, 2022 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость диссертационного исследования заключается в углублении фундаментальных представлений о патогенезе возраст-ассоциированной нейродегенерации за счёт интеграции когнитивных, поведенческих, воспалительных и метаболических компонентов в единую концептуальную модель. Работа подтверждает центральную роль NLRP3 инфламмосомы как ключевого молекулярного узла, опосредующего взаимодействие между хроническим нейровоспалением, клеточной сенесценцией и нарушениями метаболической

регуляции в стареющем мозге. Полученные данные вносят существенный вклад в развитие концепции «воспалительного старения» (inflammaging) и открывают новые горизонты для изучения механизмов нейроиммунной регуляции когнитивных функций.

Практическая значимость исследования обусловлена его трансляционным потенциалом. Результаты экспериментов дают научно обоснованное подтверждение перспективности фармакологической модуляции NLRP3 инфламмасомы как стратегии профилактики и терапии возраст-ассоциированных когнитивных нарушений. Полученные данные могут быть использованы при разработке и тестировании нейропротекторных препаратов, направленных на сохранение синаптической пластичности, межклеточной коммуникации и метаболического гомеостаза в ЦНС. Кроме того, работа предоставляет экспериментальную основу для дальнейших исследований в области раннего вмешательства при нейродегенеративных заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера.

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, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе цитирования (SCOPUS), 4 публикации в сборнике материалов научной конференции.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, в полной мере отражает основные положения, полученные результаты, выводы, степень новизны, научную и практическую значимость исследования.

Оформление диссертации и оценка ее содержания

Диссертационная работа имеет классическую структуру и изложена на 181 странице и включает в себя введение, обзор литературы, описание

материалов и методов исследования, описание результатов и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Список литературы включает 265 источников, из них 14 на русском и 251 на иностранном языке.

Во введении обоснована актуальность, анализируется степень разработанности темы, сформулированы цели, задачи, новизна и теоретико-практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» лаконично и структурированно представлены современные концепции старения и нейродегенерации: клеточная сенесценция, митохондриальная дисфункция, геномная нестабильность, inflammaging и, в особенности, нейровоспаление. Подробно рассмотрена связь метаболических нарушений с воспалением в ЦНС, включая концепцию «метафламации», а также терапевтические подходы к модуляции NLRP3 инфламмасомы.

В главе «Материалы и методы» описаны дизайн эксперимента, экспериментальные группы животных, методы поведенческого тестирования, получения клеточных культур *in vitro*, лабораторные и статистические методы.

Глава «Результаты» соответствует задачам исследования: показана ключевая роль NLRP3 инфламмасомы и метаболических механизмов в развитии возраст-ассоциированной когнитивной дисфункции и сенесценции. Показано, нокаут *Nlrp3* предотвращает развитие когнитивных нарушений, связанных со старением; генетическая или фармакологическая (глибенкламид, MCC950) инактивация инфламмасомы подавляет нейровоспаление, метафламмацию и сенесценцию. Установлена связь активации NLRP3 с церебральной инсулинорезистентностью (снижение GLUT4, рост GSK3 β) и нарушением глюкозного транспорта.

В главе «Обсуждение» результаты обобщены и проанализированы в соответствии с целями работы.

Замечания

Принципиальных к содержанию и оформлению диссертационной работы нет. Однако, есть ряд вопросов для обсуждения в качестве дискуссии:

1. Следовало бы оценивать не только тотальный уровень GSK3b, но и его фосфорилированную форму, по аналогии с тем, как это было сделано с p-IRS, p-IKKb, p-Akt1. GSK3b не только сам активно влияет на фосфорилирование downstream компонентов сигнальных путей, но и сам зависит от степени фосфорилирования.

2. В одном из экспериментах в качестве контроля использовались мыши, которым вводился DMSO. Да, DMSO является стандартным растворителем, но при этом у него достаточно много побочных эффектов, в том числе и на моторные функции, которые изучались в данном эксперименте. Корректнее было бы ввести еще одну дополнительную контрольную группу полностью интактных животных.

3. В тексте работы представлены графики и описание результатов открытого поля, при этом в материалах и методах отсутствует описание протокола данного теста.

4. Иногда в тексте статьи пропущены очевидные ссылки. Например, во фразе на стр. 143 «Ранее в своих исследованиях мы показали, что NLRP3 инфламмасома необходима для инсулин-зависимого транспорта глюкозы в миндалине. Ранее нами было показано снижение экспрессии GLUT4 в миндалине у мышей с нокаутом гена *Nlrp3*...» не указана ссылка на какую-либо работу, либо на результаты, представленные в диссертации. Через несколько предложений идет ссылка на источник 104, который не имеет отношения к данной высказанной мысли.

5. Текст описания результатов, особенно в разделе физиологии зачастую очень трудночитаемый, так изобилует неоправданно точными значениями чисел, вплоть до десятитысячных, например «Нокаутные мыши молодого возраста проводили меньше времени с объектом ($73,450 \pm 13,766$ с), чем мыши дикого типа ($161,633 \pm 21,765$ с) ($p=0,0001$, Tukey's multiple

comparisons test)». В данном случае уместнее было бы использовать только целые значения или округления до десятичных значений, но точно не до десятитысячных.

6. Рисунки оформлены не в одном стиле. Где-то различия между группами указаны в виде точных значений p (например рисунок 7), где-то с указанием $p < 0.0001$ (рисунок 13), где-то в виде звездочек (рисунок 14). При этом сами звездочки зачастую не расшифровываются в подписях к рисункам.

7. Многие сокращения на расшифровываются при первом упоминании, поэтому часто приходится обращаться к списку сокращений, который представлен в конце диссертации.

Высказанные замечания носят уточняющий характер и направлены только на углубление дискуссии вокруг диссертационной работы, которая заслуживает высочайших оценок.

Заключение

Диссертационное исследование Хилажевой Елены Дмитриевны «Роль метаболических механизмов в развитии нейровоспаления при старении (экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи: впервые в комплексе исследована роль NLRP3 инфламماسомы как медиатора нейроиммунной коммуникации и межклеточной сигнализации в контексте метаболических нарушений при старении. Автор всесторонне раскрывает её участие в формировании возраст-ассоциированных изменений — от поведенческих нарушений и признаков клеточной сенесценции до дисрегуляции метаболизма — и экспериментально обосновывает возможность фармакологической модуляции NLRP3 инфламماسомы как стратегии профилактики когнитивных расстройств, связанных со старением.

Работа 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 её автор, Хилажева Елена Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24 Нейробиология.

Официальный оппонент:

доцент кафедры генетики,
цитологии и биоинженерии
ФГБОУ ВО «Воронежский
государственный университет»,
доктор биологических наук
(1.5.4 - Биохимия)

Гуреев Артем Петрович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Воронежский государственный университет»

394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

Телефон: +7 (473) 220-75-21

Адрес электронной почты: office@main.vsu.ru

02.12.2025



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»)	
Подпись	
Сверяю	начальник отдела кадров
	должность,
	Т.В. Зарудная 02.12.2025
подпись, расшифровка подписи	