

ОТЗЫВ
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
На диссертацию **ФЕРЕШЕТЯН КАТАРИНЕ СЕРОБОВНЫ**
«Изучение нарушений эмбрионального и раннего постнатального нейрогенеза на вальпроат-индуцированной модели расстройств аутистического спектра» на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.04 – “Биохимия”

Несмотря на десятилетия исследований, расстройства аутистического спектра (PAC), нарушения нейроразвития, которые характеризуются двумя основными симптомами-изменениями социальной коммуникации и ограничительным или повторяющимся поведением, этиология и патофизиология их по прежнему сих пор полностью неизвестна. Одним из ключевых вопросов в исследовании аутизма среди прочих является выявление уязвимых периодов нарушений развития центральной нервной системы. Существенным осложнением в изучении механизмов развития данных патологий как и иных патологий ЦНС, является невозможность морфологических, биохимических исследований мозга больных. Имеются лишь данные разрозненных пост-мортем исследований мозга лиц страдающих данными нарушениями.

В настоящее время основным направлением изучения подобных патологий является моделирование на животных. В случае PAC (расстройств аутистического спектра) проблема является еще более сложной, так как основными оцениваемыми факторами являются изменения социальной коммуникации и ограничительное или повторяющееся поведение, что достаточно сложно оценивать на моделях.

Среди многочисленных факторов, влияющих на патогенез PAC, является вальпроевая кислота, применяемая в качестве противоэпилептического препарата. Показано, что воздействие вальпроевой кислоты в течение беременности тесно связано с задержкой развития нервной системы и значительно повышенным риском развития расстройств аутистического спектра у детей. Эти данные легли в основу вальпроат-индуцированных моделей PAC и различными экспериментальными исследованиями была доказана их валидность, путем выявления схожих с симптомами PAC поведенческих изменений у крыс, что послужило основанием для выбора исследования данных моделей. На основании анализа существующих данных, автор предположил о различных уровнях повреждения мозга, вызванного вальпроевой кислотой на протяжении пренатального и раннего постнатального развития, а также о тяжести проявлений поражений, что и послужило основанием для данного исследования.

Таким образом, научная новизна данной работы заключается в исследовании воздействия пренатального и постнатального введения вальпроевой кислоты подопытным животным на продолжительность и обратимость нейрогенных нарушений, проявляемых на фенотипическом,

молекулярно-клеточном и функциональном уровнях.

Основываясь на том, что важным патогенетическим звеном РАС является нарушение синаптогенеза и неправильно сформированная нейрональная сеть в областях мозга, которые отвечают за социальное поведение и коммуникацию, для достижения выдвинутой цели была проведена валидация модели с помощью поведенческих тестов и проведен целый ряд биохимических исследований, в частности:

- Определение нейротрофического фактора роста (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейротрофина-3 (Neurotrophin 3, NT-3), глиального нейротрофического фактора роста (Glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF), инсулиноподобного фактора роста (insulin growth factor, IGF) на Р14 и Р21 (1, 14 и 21 дни постнатального развития) в основных зонах нейрогенеза головного мозга: обонятельной луковице (bulbus olfactorius), префронтальной коре (prefrontal cortex), субвентрикулярной зоне (subventricular zone), гиппокампе (hippocampus). Помимо уже указанных параметров, были изучены нейрогенетические маркеры: doublecortin, NeuN- нейрон-специфичный ядерный белок, который является биомаркером зрелых нейронов, глиальный кислый фибрillлярный белок (GFAP), синаптофизин в уже упомянутых структурах головного мозга.
- Была также проведена морфологическая оценка целостности клеточных структур в различных структурах головного мозга и как логическое завершение были проведены микроэлектрофизиологические исследования на Р70 фоновой и вызванной на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) гиппокампа, мозжечка и амигдалы (ЭК) спайковой активности единичных нейронов префронтальной коры мозга.

Представленная работа составлена по требуемому формату. Общий объем диссертационной работы составляет 149 страниц, куда входят введение на 7 страницах, обзор литературы на 22 страницах и две главы: материал и методы исследования – 12 страниц, результаты исследования и их анализ - 60 страница; обсуждение - 13 страниц, заключение - 2 страницы; выводы - 2 страница; список использованной литературы состоит из 235 наименований на английском языке. Следует подчеркнуть, что основная часть указанных работ была опубликована за последние годы, имеет широкую географию, что является ярким свидетельством актуальности темы. Об этом также свидетельствуют убедительное введение и развернутый обзор литературы.

Ценность данного исследования помимо актуальности изучаемой проблемы, заключается именно в использовании широкого спектра методов исследований для фундаментальной многосторонней оценки патогенетических механизмов, лежащих в основе сложных процессов, ведущих к развитию Расстройств аутистического спектра АС. Работа проводилась параллельно на двух моделях — пренатальной и постнатальной вальпроатных, — с целью выявления ранних (ПНД 14, ПНД 21, ПНД 30) молекулярных, морфологических и поведенческих изменений, а также более поздних (ПНД 60) морфологических, поведенческих и функциональных нарушений.

В результате проведенных многопрофильных экспериментов выявлены существенные изменения в нейрогенезе, в частности, в работе отражены выраженные структурные изменения в областях мозга, являющихся зонами-мишениями для аутизма пренатальной экспериментальной группы и отсутствие аномалий у постнатальной группы, что подтвердило различную тяжесть воздействия вальпроевой кислоты на разных стадиях развития мозга.

Диссертационная работа оформлена со строгим соответствием рекомендациям КВОН РА. Логическое построение изложения работы в тексте позволяет понять и проследить ход научных изысканий. В разделе материалы и методы представлена исчерпывающая информация о дизайне и использованных, адекватных поставленным задачам современных методов. В главах “Результаты” и “Обсуждение” подробно представлены данные и их аргументированное обсуждение. Набор статистических методик обширный, цельный и позволяет провести грамотную оценку полученных результатов. Выводы оформлены рационально и отражают ключевые результаты диссертационной работы и представляют весомый научно-практический интерес.

Встречающиеся в работе единичные описки не влияют на содержание и научную ценность представленной работы, однако частое использование сокращений затрудняет чтение работы.

Автореферат также оформлен в соответствии с существующими требованиями (26 страниц), полностью отражает суть работы, иллюстрирован достаточным количеством таблиц и рисунков; краткое резюме, представленное на армянском и английском языках, дает возможность оценить содержание и результаты выполненной работы.

После ознакомления с работой возникли вопросы, на которые хотелось бы услышать ответ заявителя.

Вопрос 1.

В работе сравниваются эффекты пренатального и постнатального воздействия вальпроата на развитие центральной нервной системы. Поясните, по каким критериям были выбраны конкретные сроки и дозировки введения, и опирались ли вы при этом на данные предыдущих исследований, указывающих на различия нейоразвития на этих стадиях?

Вопрос 2.

С учётом того, что распространённость расстройств аутистического спектра у мальчиков и девочек соотносится примерно как 4:1, учитывались ли в исследовании возможные половые различия на вальпроат-индуцированной животной модели? Включались ли в эксперимент животные обоего пола, и если да, отмечались ли различия в выраженности поведенческих и нейрохимических изменений?

Вопрос 3.

Какие дополнительные методы анализа или тесты могли бы быть включены для более комплексной оценки влияния вальпроевой кислоты на нейрогенез и синаптогенез в модели аутизма у крыс?

Диссертационная работа Ферешетян Катарине Серобовны «Изучение нарушений эмбрионального и раннего постнатального нейрогенеза на вальпроат-индуцированной модели расстройств аутистического спектра», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – “Биохимия”, является законченной научно-исследовательской работой, в которой на высоком научно-методическом уровне решена актуальная задача. Полученные данные представляют весомый научно-практический интерес для биохимиков, физиологов, патологов, а также специалистов медико-биологических наук, врачей.

По своей актуальности, новизне, значимости и достоверности полученных результатов работа полностью соответствует требованиям 7-ого пункта положения РА о присуждении ученой степени, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель Ферешетян Катарине Серобовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – “Биохимия”.

Заведующая кафедрой медицинской химии, Ереванского государственного медицинского университета имени М. Гераци, доктор биологических наук,

профессор Мелконян М.М.

Подпись доктора биологических наук, профессора Мелконян М.М.

Заверяю

Ученый Секретарь ЕГМУ, доктор медицинских наук, профессор Т.Г. Авакян



05, 12, 2025