

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук

Саранцевой Светланы Владимировны

на диссертацию Екатерины Александровны Никитиной на тему

«Физиолого-генетический анализ механизмов патогенеза

нейродегенеративных заболеваний с привлечением моделей на дрозофиле»,

представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук

по специальности 03.03.01 – физиология и 03.02.07 – генетика

**Актуальность работы.** Нейродегенеративные заболевания (НЗ) - группа заболеваний, в основе которых лежит гибель нейронов и потеря синапсов в определенных отделах мозга. Клинические проявления НЗ, как правило, наблюдаются в пожилом возрасте, однако патологический процесс начинает развиваться намного раньше. Подавляющее число случаев таких наиболее распространенных заболеваний, как болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона являются спорадическими и лишь незначительная их часть (менее 5%) вызвана мутациями в отдельных генах. Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор малопонятны процессы, лежащие в основе развития нейродегенерации, и, поэтому, на сегодняшний день не существует радикальных методов в профилактике и лечении НЗ. Для большинства НЗ отмечается накопление вне- и внутриклеточных отложений агрегированных белков, но не ясно является ли это пусковым механизмом развития заболевания или следствием нарушения других клеточных процессов. Рассматривается большое число потенциальных механизмов нейродегенерации, включая нарушения гомеостаза белков, разрушение процессов их деградации, экспрессии генов,

дисфункции митохондрий и т.д. Безусловно, понимание фундаментальных процессов, лежащих в основе этой группы заболеваний будет иметь значительный социальный эффект. В связи с вышесказанным тема диссертационного исследования Е.А. Никитиной не вызывает сомнения.

**Структура диссертации.** Диссертация построена по традиционному плану – состоит из Введения (8 стр.), Обзора литературы (149 стр.), главы «Материалы и методы исследования» (28 стр.), главы «Результаты исследования» (154 стр.), главы «Общее обсуждение результатов» (17 стр.), «Заключения» (2 стр.), «Выводов» ( 2 стр.), «Списка сокращений» (10 стр.) и «Списка литературы» (820 источников).

Во введении автор обосновывает составляющие, примененного в работе, комплексного подхода к пониманию патогенеза нейродегенеративных и геномных заболеваний. Комплексность подхода заключается в моделировании на простых модельных объектах трех основных (по мнению автора) диагностических признаков нейродегенеративных заболеваний (нарушение памяти, моторной дисфункции, образование белковых агрегатов), и изучение генов и молекулярных механизмов, участвующих в их контроле. Во введении обоснована актуальность проведенного исследования и практическая значимость, четко и корректно сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, практическая и теоретическая значимость проведенных исследований, приведены 3 основные положения, выносимые автором на защиту.

Обзор литературы занимает значительную часть диссертации. В нем подробно рассмотрена классификация нейродегенеративных заболеваний, их клинические признаки и диагностика, основные патоморфологические изменения. На некоторых, наиболее часто встречающихся (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви и т.д.) автор останавливается более подробно. В обзоре рассмотрены общие черты патогенеза этих заболеваний, рассмотрены процессы, которые могут

приводить к развитию нейродегенерации: аномальный фолдинг и отложения определенных белковых агрегатов, нарушение работы нейротрансмиттерных систем и некодирующих РНК, актинового цитоскелета. Подробно описаны свойства нейротрофических факторов, обсуждена возможность их использования в лечении нейродегенеративных заболеваний. Часть обзора касается механизмов формирования памяти и локомоторного поведения у дрозофилы. Обзор написан очень обстоятельно и интересно, и дает объективную картину состояния проблемы нейродегенеративных заболеваний.

Глава «Материалы и методы» дает четкое представление об использованном богатом методическом материале, который включает генетические, молекулярно-биологические и физиологические методы исследования. Широко используются иммуногистохимические и иммунофлуоресцентные методы для анализа распределения белков в разных органах и тканях личинки и имаго. Работа выполнена на модельном объекте *Drosophila melanogaster*. Используются как линии дикого типа, так и мутантные и трансгенные линии дрозофилы. Оценка количественных результатов проведена современными статистическими методами анализа, которые адекватны поставленным задачам.

Глава «Результаты исследования» разделена на 5 разделов, в которых представлен обширный экспериментальный материал. Первый раздел посвящен первому диагностическому признаку из триады, обозначенной автором во «Введении» - анализу когнитивного поведения. С использованием различных линий *Drosophila melanogaster*, показано, что в основе нарушения памяти могут лежать разные факторы: нарушения метаболизма LIMK1, дисрегуляция функций некодирующих РНК, нарушение кинуреинового пути обмена триптофана (КПОТ). Получены интересные данные о возможности использования нейротрофических факторов в лечении нейродегенеративных заболеваний. Некоторые из исследованных линий (с

полиморфизмом в гене *limk1* и с мутациями по КПОТ) могут быть использованы в качестве моделей нейродегенеративных заболеваний. Результаты анализа локомоторной активности личинок, представленные во втором разделе, выявили наибольшие нарушения в линиях с полиморфизмом в гене *limk1* и, хотя и в меньшей степени, в линиях с мутациями по КПОТ. Примечательно, что для анализа двигательной активности личинок использована методика, разработанная в лаборатории нейрогенетики, которая в дальнейшем может быть использована, как экспресс метод для скрининга фармакологических препаратов. В двух следующих разделах представлены результаты экспериментов по анализу экспрессии генов, вовлеченных в функционирование сигнальных каскадов и распределению компонентов сигнальных каскадов в органах дрозофилы, дисбаланс которых, по мнению автора, может лежать в основе когнитивных и моторных нарушений, выявленных ранее. Проведенные эксперименты позволили автору обосновать положение об общей точке пересечения в патогенезе нейродегенеративных и геномных заболеваний, а именно сигнального каскада ремоделирования актина, ключевым ферментом которого является LIMK1. Интересны данные о роли эпигенетической составляющей, микроРНК, в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, представленные в пятом разделе. Ведь эпигенетические факторы, в частности некодирующие РНК, рассматриваются в настоящее время, как одни из факторов, лежащих в основе патогенеза спорадических форм нейродегенеративных заболеваний. Следует отметить, что экспериментальный материал изложен детально, прекрасно проиллюстрирован рисунками высоко качества.

Несомненный интерес представляет предложенная автором в главе «Общее обсуждение результатов», модель для изучения генеза нейропатологии при нейродегенеративных и геномных заболеваниях.

Все результаты, представленные на защиту, получены либо лично диссертантом, либо при его непосредственном участии. Достоверность представленных в диссертации материалов не вызывает сомнений.

Принципиальная **новизна** исследования заключается в том, что автором разработан комплексный подход к изучению диагностических признаков нейродегенеративных заболеваний, основанный на современных и оригинальных методах исследования.

**Теоретическая значимость** работы состоит в получении новых данных об общих механизмах патогенеза нейродегенеративных заболеваний и о взаимодействии новых молекулярных механизмов этих заболеваний.

**Практическая значимость работы** заключается в выявлении новых мишеней для разработки лекарственных средств, разработке моделей для быстрого предварительного скрининга различных фармакологических средств и их оценки.

Принципиальных **замечаний** по результатам, полученных автором, не имеется. В то же время в работе неоднократно рассматривается нейротоксичная роль определенных белковых отложений в мозге, как один из ключевых механизмов нейродегенерации. Однако многочисленные исследования не выявили корреляции между этими отложениями и основными клиническими признаками нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона. В настоящее время наиболее нейротоксичными считаются растворимые олигомерные формы определенных для каждого заболевания белков, повышенная наработка которых и запускает многочисленные нейродегенеративные процессы. Процесс аномального отложения определенных белков в мозге, по крайней мере, его начальные стадии, рассматривается некоторыми исследователями, как некоторый механизм для ингибирования токсичных растворимых форм. К сожалению, в представленной работе эта проблема не рассматривается. Также, давая общую характеристику нейродегенеративных заболеваний, автор указывает, что, в результате гибели определенных групп нервных клеток происходит прогрессирующая потеря памяти, приводящая к смерти. Однако, как правило,

гибель пациентов происходит в результате сопутствующих заболеваний или дисфункции жизненно-важных систем организма.

Однако сделанные замечания не снижают значение проведенных исследований и полученных результатов, существенно расширяющих представление о молекулярных механизмах нейродегенерации. Все положения, вынесенные соискателем на защиту, полностью доказаны, а имеющиеся выводы логичны и следуют из полученных результатов, которые представлены в 16 статьях. Работа неоднократно докладывалась на отечественных и зарубежных конференциях и съездах. Основные положения диссертации адекватно отражены в автореферате.

### **Заключение.**

Таким образом, есть все основания рассматривать работу Екатерины Александровны Никитиной на тему «Физиолого-генетический анализ механизмов патогенеза нейродегенеративных заболеваний с привлечением моделей на дрозофиле», представленную к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология и 03.02.07 - генетика как законченное научное исследование. Совокупность обоснованных в нем положений можно классифицировать как новое крупное научное достижение, открывающее перспективный путь в борьбе с такими серьезными социально-значимыми мультифакторными заболеваниями, как нейродегенеративные болезни.

Учитывая актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость, высокий методический уровень исследования, можно заключить, что диссертационная работа Е.А. Никитиной полностью соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года), а ее автор Никитина Екатерина Александровна заслуживает присуждения ученой

степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология и 03.02.07 - генетика.

Доктор биологических наук,  
заведующая лабораторией экспериментальной и  
прикладной генетики,  
заместитель директора по научной работе  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
Петербургский институт ядерной  
физики им. Б.П. Константинова  
НИЦ Курчатовский институт.  
188300, Ленинградская обл., г. Гатчина  
Орлова роща, ФГБУ ПИЯФ.  
Тел.: 8(81371)46-344.  
e-mail: svesar1@yandex.ru

Саранцева Светлана Владимировна



Подпись руки Саранцева С.В.

ЗАВЕРЯЮ:

Имя С.В.

Голубкова О.К.