

**ОТЗЫВ**  
**официального оппонента**  
**на диссертацию**  
**Заломаевой Екатерины Сергеевны**  
**на тему: «РОЛЬ ГЕНА *limk1* В ОБУЧЕНИИ И ЗАБЫВАНИИ У**  
***DROSOPHILA MELANOGASTER*», представленную**  
**на соискание ученой степени кандидата биологических наук**  
**по специальности 1.5.5 - Физиология человека и животных**

**Актуальность избранной темы**

Проблема познания того, как работает память и какие молекулярные механизмы лежат в основе ее функционирования, является одной из центральных проблем современной медико-биологической науки. Значимость исследований процессов, протекающих в нервной системе, трудно переоценить. Это легко иллюстрируется тем, что в настоящее время (согласно БД Scopus) только в области нейронаук на регулярной основе публикуется 679 (!) научных журналов. Востребованность обществом результатов этих исследований во многом обусловлена тем, что, согласно ВОЗ, в мире насчитывается более 55 миллионов людей с деменцией, и ежегодно регистрируется около 10 миллионов новых случаев. Ключевой аспект в проявлении деменции – это стойкое снижение когнитивных функций, память из которых является, пожалуй, центральной. В этой связи, представляемая диссертационная работа Е.С. Заломаевой, посвященная выявлению роли гена *limk1* в процессах приобретения и потери памяти, безусловно является актуальной, а полученные результаты имеют несомненную значимость для современной физиологии и медицины.

**Структура и характеристика диссертационной работы**

Представленная работа написана в классическом стиле: изложена на 157 страницах и состоит из глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждение», «Выводы» и «Заключение». Работа завершается изложением «списка

цитируемой литературы», который насчитывает 243 источника и Приложением (на 17 страницах). Работа достаточно хорошо проиллюстрирована, содержит 6 таблиц и 57 рисунков. Диссертация написана хорошим академическим языком без злоупотребления аббревиатурами и достаточно легко читается.

В разделе «**Введение**» автором приводится обоснование актуальности темы исследования, анализируется степень разработанности проблемы, четко формулируются цель и задачи исследования, обозначается научная новизна, теоретическая и практическая значимость, приводится информация об апробации материалов исследования и публикации их в рецензируемой печати, а также о личном вкладе автора. В этой же главе приведены и положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы**, занимающий 43 страницы, позволяет получить: (i) картину современных представлений о том, что такое память, о её классификациях, этапах и нарушениях; (ii) сведения о структурах мозга дрозофилы, ответственных за процессы памяти, а также о том, почему *Drosophila melanogaster* является одним из уникальных объектов для различных методов изучения процессов памяти; (iii) сведения о строении и функциях белка LIMK1 в функционировании нервной системы как в норме, так и при патологиях.

Достаточно лаконичный и в то же время информативный обзор свидетельствует о свободном владении автором большим теоретическим материалом и служит хорошей предпосылкой для проведения экспериментальных исследований.

Раздел «**Материалы и методы исследования**» изложен на 11 страницах. Здесь автор привела информацию о всех использованных в работе линиях дрозофилы, о методах скрещивания мух для получения различных экспериментальных групп с увеличением экспрессии или с подавлением экспрессии *limk1* в определенных нейронах. Далее описана методика подавления ухаживания; очерчено, как эта методика связана с процессами запоминания и забывания, ну и представлена схема анализа получаемых

данных при реализации данной методики. Отдельно представлена подглава «Молекулярно-генетические методы», где описаны методы ПЦР, иммуногистохимии и конфокальной микроскопии. Оканчивается методический раздел описанием способов статистической обработки результатов.

«**Результаты исследования**» изложены на 32 страницах и достаточно хорошо проиллюстрированы (как в тексте диссертации, так и в Приложениях). В данной главе автор подробно описывает как проходят процессы обучения и забывания у линий мух с полиморфизмом по гену *limk1* (*Canton-S*, *Berlin* и *Oregon-R*) и мутантной линии *agn<sup>ts3</sup>*. Демонстрируются сходства и различия в обучении и забывании в стандартных условиях и в условиях стресса (теплового шока). Далее рассматриваются данные об изменениях в индексе обучения у мух с селективной активацией или селективным ингибированием экспрессии исследуемого гена в холинергических, в дофаминергических и серотонинергических нейронах, а также в нейронах *fruitless*. После этого приводятся данные об анализе уровня РНК *limk1* при селективной активации или селективном подавлении экспрессии в вышеназванных нейронах мозга мух. Оканчивается глава анализом распределения уже белка LIMK1 в различных структурах мозга *Drosophila* при изменении экспрессии гена *limk1* в холинергических, в дофаминергических и серотонинергических нейронах, а также в нейронах *fruitless*.

«**Обсуждение**» экспериментальных результатов изложено на 11 страницах, где на основе полученных данных формулируется ряд выводов, заключений, предположений и гипотез о роли белка LIMK1 в механизмах развития и угасания памяти.

### **Новизна и достоверность полученных данных**

Автором получен значительный массив экспериментальных данных, новизна которых не подлежит сомнению. Впервые на одной из самых популярных экспериментальных моделей для изучения памяти проведен детальный анализ экспрессии белка LIMK1 в различных отделах мозга.

Показана временная динамика изменений, а также оценены уровни экспрессии белка как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции. Продемонстрировано, как активация или подавление экспрессии гена *limk1* сказывается на процессах сохранения памяти.

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

Одной из особенностей данной работы заключается в четкости и лаконичности поставленной цели. Для ее достижения диссертантом абсолютно оправданно было проведение детального мониторинга процесса запоминания и забывания как при активации, так и при подавлении экспрессии исследуемого гена. Далее, абсолютно оправданно была проведена оценка экспрессии гена не только на уровне транскрипции, но и на уровне трансляции. Следовательно, глубина и тщательная проработка поставленной цели, полученный массив экспериментальных данных, хорошая ориентация диссертанта в актуальных представлениях о прорабатываемой проблеме, апробация результатов на большом количестве научных конференций и симпозиумов, так же, как и хорошая публикационная составляющая в рецензируемой печати, - все это позволяет говорить о высокой степени обоснованности тех положений, которые выносятся на защиту.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Настоящее диссертационное исследование действительно имеет серьезную как теоретическую, так и практическую составляющие, которые тесно переплетены между собой.

В плане теоретической значимости высокую ценность имеет факт выявления корреляции и/или причинно-следственных связей между уровнем экспрессии гена/белка LIMK1 и процессами формирования, сохранения и угасания памяти на самой, пожалуй, известной и распространенной в нейронауках экспериментальной модели – в нервной системе *Drosophila*

*melanogaster*. Это крайне важно для дальнейших исследований в области молекулярных механизмов, лежащих в основе когнитивных процессов.

В практическом аспекте ценность представляет то, что полученные свидетельства участия белка LIMK1 в сохранении и угасании памяти предопределяют необходимость дальнейших исследований данного белка на более сложноорганизованных моделях. Далее, открываются перспективы для изучения белков-партнеров LIMK1, которые также могут быть вовлечены в процессы изменения памяти. В конечном итоге, данная работа способствует выявлению маркеров развития процесса активного забывания, что крайне важно ввиду того, что в настоящий момент отсутствуют надежные клинически маркеры развития когнитивных нарушений, впрочем, как и эффективные методы терапии таких нарушений, включая деменцию.

### **Замечания**

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Заломаевой Е.С. у меня не возникло. Тем не менее, считаю необходимым выделить несколько моментов, изменения в которых улучшили бы восприятие работы. Почти все они касаются графического представления данных.

1. Рис. 3.6-3.9. Показаны данные лишь одной серии экспериментов, тогда как и в подрисуночной подписи и на самом рисунке стоят обозначения статистической разницы с другим пулом данных (контроль и/или Canton-S). Было бы все-таки лучше, если тот пул данных, с которым идет сравнение так же присутствовал на рисунке.
2. Рис. 3.11 и 3.12, 3.13 и 3.14, 3.15 и 3.16, 3.17 и 3.18: имеет место дублиаж представления данных. Лучше было бы этого избежать.
3. Во всей работе отсутствует графическое представление результатов, иллюстрирующее распределение данных внутри экспериментальной группы (значение в каждом эксперименте, стандартное отклонение и т.д.), как настоятельно рекомендуется в современной научной рецензируемой печати.

4. По выводу 2. «Подавление экспрессии гена *limk1* ... увеличивает скорость забывания» и «Активация экспрессии гена *limk1* ... ускоряет забывание». «Увеличение скорости забывания» и «ускорение забывания» - это одно и то же? Если так, то вывод можно было сделать намного более лаконично и недвусмысленным: например - «Как подавление, так и активация экспрессии гена *limk1*... ускоряет забывание».

### Вопросы

При изучении работы у меня возникло несколько вопросов уточняющего и дискуссионного характера:

1. Почему в исследовании (согласно трактовке задач) сосредоточились на рассмотрении только краткосрочной и среднесрочной форм памяти? Почему за рамками работы осталась долгосрочная форма памяти, значение которой придается намного больше, чем первым двум перечисленным формам? При этом, в обзоре литературы (с. 16-17) утверждается, что для дрозофилы среднесрочная память – это 30 мин – 3 часа, а более 6 часов – уже долгосрочная. В тоже время в исследовании одна из важнейших точек – это 24 часа, тем не менее, термин «долгосрочная память» в исследовании практически не используется. Проясните это, пожалуйста.
2. При анализе ИО линий с изменением экспрессии гена *limk1* в дофаминергических и серотонинергических нейронах на сроке 24 часа получен достаточно неожиданный результат (практически не встречаемый до этого): приобретение регистрируемым индексом обучения «крайне высоких» отрицательных значений. Возможно ли, что это обусловлено нарушением каких-либо других процессов в нервной системе, не связанных с памятью и обучением? Обсудите возможные причины такого результата?

3. Прокомментируйте и предложите в более развернутой форме механизм, который лежит в основе выявленного феномена того, что как подавление, так и активация экспрессии гена *limk1* в холинергических нейронах приводит к одному и тому же результату – ускорению забывания.
4. По Вашему мнению, экспрессию какого белка наиболее предпочтительнее будет исследовать в ближайшем будущем в аспекте разрабатываемой проблемы (активного забывания)?

Дискуссионные и уточняющие вопросы, также, как и отмеченные замечания, никоим образом не умаляют значимости данного диссертационного исследования.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Заломаевой Екатерины Сергеевны на тему: «РОЛЬ ГЕНА *limk1* В ОБУЧЕНИИ И ЗАБЫВАНИИ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*», представленная на соискание степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих важное значение для развития современных взглядов на процессы формирования и сохранения памяти. По объему выполненных исследований, их новизне и научно-практической значимости настоящая диссертация соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановлений Правительства РФ от 28 августа 2017 г. №1024, от 1 октября 2018 г. №1168, от 26 января 2023 № 101 и от 16 октября 2024 г. №1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Заломаева Екатерина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой

степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник лаборатории биофизики  
синаптических процессов  
Казанского института биохимии и биофизики  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
«Казанский научный центр  
Российской академии наук»

Маломуж Артем Иванович

1.06.2026

Контактные данные:

тел.: +7(927)4059304, e-mail: artur57@list.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация:  
03.00.13 – физиология

Адрес места работы:

420111, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского, д.2/31,  
Казанский институт биохимии и биофизики-  
обособленное структурное подразделение  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
«Казанский научный центр  
Российской академии наук»

Тел.: (843) 292-73-47; e-mail: a.malomuzh@knc.ru

