

В диссертационный совет
Д 208.072.14 при ФГАОУ ВО
РНИМУ им. Н. И. Пирогова
Минздрава России

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Демьяненко Светланы Викторовны
«Сигнальные и эпигенетические процессы повреждения и защиты мозга
после ишемического инсульта», представленной на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности
03.01.04 – Биохимия; 14.03.03 – Патологическая физиология

Изучение сигнальных и эпигенетических процессов повреждения и защиты мозга после ишемического инсульта является актуальной проблемой биологии и медицины, так как инсульт занимает второе место в мире среди причин смерти, что во многом связано с отсутствием эффективных нейропротекторных препаратов. Для поиска нейропротекторов с низкой цитотоксичностью необходимо более глубокое и всестороннее изучение молекулярных процессов внутриклеточной регуляции, лежащих в основе механизмов нейродегенерации и нейропротекции. Целью работы Демьяненко С.В. было изучение сигнальных и эпигенетических механизмов ишемического повреждения клеток мозга в острый период и в период восстановления для выявления молекулярных мишеней, направленное воздействие на которые, обеспечит сохранность клеток пенумбры и повысит регенеративные возможности мозга. В работе Демьяненко С.В. определены группы белков, участвующие во внутриклеточной сигнализации, регуляции апоптоза, цитоскелета, везикулярного транспорта, синаптической передачи, ацетилировании гистонов и негистоновых белков, многие из которых являются новыми в контексте исследования инсульта. Нужно отметить современный уровень исследований автора, сочетающий протеомные методы исследования, иммунофлуоресцентную, электронную и световую микроскопию, иммуноблоттинг, поведенческие тесты, изучение апоптоза и

некроза клеток *in vivo* и *in vitro*. Для выполнения поставленных задач автором были разработаны оригинальные протоколы животных моделей локального ишемического инсульта с расширенной пенумброй и ишемического прекондиционирования на основе фотоиндуцированного тромбоза сосудов мозга, что позволило достичь высокой воспроизводимости результатов.

Следует подчеркнуть, что, кроме несомненной теоретической значимости, данная работа имеет и практическое значение. Показано, что ингибитор протеинкиназы LIMK2 T56-LIMKi, экзогенный белок HSP70, селективные ингибиторы гистондеацетилазы HDAC2 MI192 или α -фенил трополон, гистондеацетилазы HDAC6 тубастатин А или NBOP, могут быть потенциальными нейропротекторами при инсульте.

Вместе с тем, следует отметить некоторые допущенные неточности.

На стр. 34 читаем, что «по результатам проведенных протеомных исследований было отобрано четыре белка, участвующих в различных сигнальных и метаболических процессах, экспрессия которых была более чем на 70% увеличена или снижена в пенумбре после фототромботического инсульта. Это сверхэкспрессируемые триптофангидроксилаза (ТГ), участвующая в синтезе серотонина, фосфотирозин-регулируемая киназа двойной специфичности (DYRK1A), которая фосфорилирует ряд факторов транскрипции и кофилин, который деполимеризует фибриллярный актин и участвует в перестройке актинового цитоскелета». Четвертый белок не называется, что заставляет искать кандидата, например, PAR4, уровень которого повышается в 1,5 – 2 раза. С другой стороны синтез (а не экспрессия) трех перечисленных белков только увеличивается, но не снижается.

Важность эпигенетической регуляции не вызывает сомнения, что отражено и в названии диссертации. Однако исследования ограничены

определением активности гистонацетилаз и гистондеацетилаз, что можно рассматривать как начало большой работы.

Общее замечание касается использованных названий белков.

Часто используются синонимы, а не официальные имена согласно HUGO Gene Nomenclature Committee, например: p53 – TP53, p38 – MAPK14, p75 – TNFRSF1B, c-Myc – MYC, Jnk – MAPK8, AIF – AIFM1, PAR4 – PAWR, NMDAR2A – GRIN2A, GADD153 – DDIT3, GADD65/67 – GAD2/GAD1, ERK1 – MAPK3, Akt – AKT1, MKP-1 – DUSP1, p63 – TP63, p21WAF-1 – CDKN1A, киназа CAM – CALM1. Общеизвестные синонимы можно было бы указывать в скобках. Среди многочисленных белков, изменение экспрессии которых изучалось, присутствуют важные белки семейства TP53 – собственно, TP53 и TP63. Однако нет TP73, изоформы которого играют важную роль в реакции на стресс.

Можно также задать вопрос: почему использовали рекомбинантный именно человеческий HSP70, а не белок грызунов?

В автореферате присутствуют опечатки:

вместо поливинил-дифторид должен быть поливинилиденфторид; в течении 3 дней – в течение; селективного ингибитора HDAC4/5 – селективный ингибитор; α -фенил трополон – α -Фенил трополон (начало предложения); снижение белков клатриновых пузырьков – снижение уровня белков; выделены белки, участвующие во внутриклеточной сигнализации – определены белки.

Есть неудачные фразы: «исследовали изменения экспрессию, и локализацию различных гистондеацетилаз»; «понимание механизмов смерти и восстановления после ишемии в значительной степени «нейроцентричны»; «статистическую обработку всех полученных данных проводили в программе» – должно быть: проводили с помощью программы.

Сделанные замечания не являются принципиальными и не снижают ценность работы.

По результатам выполненных исследований опубликованы монография, 46 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, из которых 16 статей – в журналах 1 и 2 квартиля и 21 – тезисы конференций в рецензируемых журналах, индексируемых в Scopus, Web of Science, все 1 и 2 квартиля. Исследования были поддержаны двумя грантами РНФ и двумя грантами РФФИ.

Полученные Демьяненко С.В. результаты вносят существенный вклад в понимание фундаментальных механизмов выживания и гибели клеток мозга в условиях ишемического стресса, а также способствуют разработке эффективных нейропротекторных препаратов для лечения ишемического инсульта, что соответствует требованиям п.9 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 2.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.04.2017г., №1168 от 01.10.2018г.) предъявляемым к докторским диссертациям, а соискатель, заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия и 14.03.03 – Патологическая физиология.

Заведующий лабораторией
молекулярной генетики

д.б.н. Вербенко В.Н.

заведующий лабораторией
протеомики

д.б.н. Нарыжный С.Н.

отделения молекулярной и
радиационной биофизики
Петербургского института
ядерной физики
им. Б.П. Константинова
НИЦ «Курчатовский институт»



Вербенко В. Н. и
Нарыжный С. Н.
начальник отдела кадров Зинovieва А. Н.

13.09.2021