

## Отзыв

на автореферат диссертации Кухарского Михаила Сергеевича «Нарушение функций рибонуклеопротеиновых комплексов в патогенезе бокового амиотрофического склероза», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) остается одним из самых тяжелых и неизлечимых неврологических расстройств. За последние годы было выявлено большое количество новых генов, ассоциированных с данным заболеванием, всего их обнаружено более 40. Кодированные ими белки выполняют совершенно различные функции в клетке – от регуляции окислительно-восстановительного потенциала до участия в метаболизме РНК. Мутантные варианты многих генов из этого перечня используются для создания моделей БАС на животных, которые активно применяются для доклинического тестирования лекарственных препаратов. Несмотря на нарастающее количество данных о генетических факторах, связанных с БАС, около 90% случаев этого заболевания носят спорадический характер и их этиология не известна. Таким образом, поиск универсальных факторов развития БАС является крайне сложной, но важной задачей. В этой связи диссертационное исследование М.С. Кухарского, посвященное идентификации и всесторонней характеристике нового общего фактора, сопутствующего развитию БАС – нарушению функций рибонуклеопротеиновых комплексов, вносит существенный вклад в расширение представлений о механизмах возникновения и развития БАС.

Представленная соискателем работа представляет собой обширное, многолетнее, логически выверенное исследование, включающее характеристику нескольких молекулярно-генетических факторов участвующих в развитии БАС. Первым таким фактором является снижение уровня ядерного белка TDP-43. Гистопатологические отложения TDP-43 обнаруживаются практически при всех случаях БАС, поэтому ему отводится особое место в патогенезе заболевания. В данной работе в клеточных культурах было смоделировано снижение TDP-43 путем подавления его синтеза с помощью РНК-интерференции. В результате в клетках активировалась сборка параспеклов. В ходе дальнейших экспериментов было показано, что ключевым событием, приводящим к усилению сборки параспеклов является активация интерферонового пути. Оказалось, что сам по себе интерферон бета способен запускать образование параспеклов. Одновременное блокирование синтеза TDP-43 и способности клеток обеспечивать сборку параспеклов приводило к усилению апоптотической гибели клеток. На основании этого автор заключил, что параспеклы имеют протекторное значение для клеток. Хотя этот вывод и прямо вытекает из тех данных, что представлены в работе его можно признать дискуссионным, так как в литературе имеются противоречивые данные на этот счет. Какие еще данные автора указывают на нейропротекторный характер параспеклов?

Следующий раздел работы посвящен анализу последствий подавления синтеза РНК Neat1, которая является основным структурно-функциональным компонентом параспеклов. Эти исследования проводились на нокаутных по гену Neat1 мышам, а также на первичных клеточных культурах, полученных из мозга этих мышей. Хотя у животных в отсутствие экспрессии Neat1 и не наблюдалось симптомов схожих с теми, что характерны для БАС, был отмечен ряд психических отклонений, связанных с активностью и тревожностью, что иногда обнаруживается как при самом БАС, так и при других нейродегенеративных заболеваниях. Эти результаты, также представляют интерес с точки зрения общебиологического значения Neat1 и длинных некодирующих РНК в целом.

В заключительной части работы автор приводит результаты исследования белка CREST, мутации в котором ассоциированы с семейными формами БАС. Экспрессия в клетках генетических конструкторов с различными семейными мутациями, а также вариантов белка с удаленными доменами показала, что CREST характеризуется высокой склонностью к агрегации и при этом оказывает токсическое действие на нервные клетки в культуре, снижая рост и ветвление нейритов. Одним из объяснений такой токсичности, согласно результатам, полученным автором, может являться негативный эффект агрегации CREST на образование параспеклов. Объединяя изложенные результаты в работе делается вывод о том, что целый ряд патологических изменений при БАС может быть объяснен изменениями в функционировании специфических рибонуклеопротеиновых комплексов, таких как параспеклы, а продукты генов, ассоциированных с БАС, могут быть или участниками таких комплексов или косвенно влиять на них через взаимодействия с другими участниками.

К преимуществам данной работы можно отнести актуальность темы и профессиональный подход к постановке проблемы и задач исследования, продуманное планирование исследовательской работы, обширность и разноплановость использованных экспериментальных подходов, грамотный анализ данных. Полученные результаты подробно обсуждены, с привлечением последних литературных данных по проблеме. Достоверность результатов не вызывает сомнений, они гармонично сочетаются с работами других исследователей по данной теме. Это подтверждается и публикациями по теме диссертации в отечественных и международных периодических изданиях с высокими индексами цитирования.

Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01 октября 2018 г.) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Кухарский Михаил Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Доктор биологических наук  
по специальности 03-01-03 – Молекулярная биология,  
главный научный сотрудник Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки  
Института молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН, лаборатория конформационного  
полиморфизма белков в норме и патологии

В.А. Митькевич

119991, г. Москва, ул. Вавилова 32,  
Рабочий телефон +7(499)1359824  
e-mail: [mitkevich@gmail.com](mailto:mitkevich@gmail.com)

Подпись В.А. Митькевича заверяю  
Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.н.

06 сентября 2021 г



А.А. Бочаров