

В диссертационный совет
21.2.058.07 на базе ФГАОУ ВО
РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дзряян Валентины Александровны «Ацетилирование и деацетилирование факторов транскрипции p53 и E2F1 клеток периферической нервной системы после аксотомии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. «Биохимия».

Диссертационная работа Дзряян В.А. посвящена изучению процессов, приводящих к гибели клеток в ганглиях брюшной нервной цепочки речного рака и в ганглиях дорсальных корешков спинного мозга крыс после аксотомии периферических нервов. В частности, в работе исследованы вызванные аксотомией изменения уровня транскрипционных факторов P53 и E2F1 и гистондеацетилаз I класса, а также связь этих изменений с гибелью клеток. Актуальность темы обусловлена тем, что понимание механизмов, лежащих в основе гибели клеток ганглиев после аксотомии, необходимо для разработки эффективных средств, способствующих регенерации периферических нервов после травмы. Следовательно, выполненное в работе изучение роли ацетилирования/деацетилирования негистоновых белков в регуляции выживаемости клеток поможет пролить свет на причины гибели клеток, а также найти потенциальные терапевтические мишени.

Соискателем впервые исследованы изменения уровня гистондеацетилаз HDAC1, HDAC2 и HDAC3, а также факторов транскрипции E2F1 и p53 и их ацетилированных форм в различных компартментах клеток аксотомированных ганглиев речного рака и крысы. В работе впервые изучены белок-белковые взаимодействия факторов транскрипции p53 и E2F1

с HDAC1, а также определена деацетилазная активность HDAC1 в отношении исследуемых белков. Кроме того, показано нейропротекторное действие ингибиторов HDAC1 и фактора E2F1 после аксотомии.

Необходимо отметить высокий методический уровень работы. Автором использован целый ряд современных научных методов, включая ПЦР в реальном времени, иммуноблоттинг, иммунопреципитацию, иммунофлуоресцентную микроскопию и определение гистондеацетилазной активности. Результаты работы изложены последовательно и достаточно полно отражены в выводах. Полученные данные грамотно проанализированы и их достоверность не вызывает сомнений.

Вопросы и замечания:

1. Положения, выносимые на защиту, сформулированы очень многословно и дословно совпадают с выводами диссертации.
2. В разделе «Основные методы» в пункте «Иммунофлуоресцентная микроскопия» не указано, каким способом была проведена подготовка ткани к иммуноокрашиванию.
3. В подписи к рисунку 4 сказано, что на фотографиях (а) и (б) изображен «множественный апоптоз глиальных клеток и единичных нейронов DRG через 7 суток после аксотомии» и что стрелками на фотографии (б) отмечены нейроны, однако на этих фотографиях отсутствуют изображения клеток, окрашенных нейрональным и глиальным маркерами. Возникает вопрос, на каком основании в подписи говорится о нейронах и глиальных клетках?
4. В пункте «План исследования» написано: «Для дальнейшего исследования выбраны следующие белки, уровень которых после аксотомии заметно возрастал: p53, E2F1, каспаза 3, гистондеацетилаз HDAC1, HDAC2 и HDAC3.» Однако по данным автора, после аксотомии повышался уровень еще целого ряда белков (см. стр.10). Возникает вопрос, почему для дальнейшего исследования были выбраны именно перечисленные выше белки?

5. Задача 2 отчасти состоит в том, чтобы определить внутриклеточную локализацию ацетилированных форм белков P53 и E2F1, отдельно в нервных и глиальных клетках речевого рака, однако эти данные не представлены в автореферате. Также в автореферате отсутствуют данные о локализации ацетилированных форм p53 и E2F1 в глиальных клетках и нейронах ганглиев крысы.
6. На каком основании сделан вывод о выходе E2F1 в цитоплазму? Представленные в табл.2 данные говорят о том, что в течение 24ч после аксотомии возрастает уровень белка, как в цитозольной, так и в ядерной фракции, но на этом основании нельзя однозначно говорить о выходе белка в цитоплазму, т.к. возможно усиление синтеза белка, а не его перераспределение.

Высказанные замечания не снижают общего впечатления от работы. Нет сомнений, что полученные данные позволят по-новому взглянуть на функции деацетилаз гистонов, а также могут лечь в основу теоретической базы, используемой в дальнейшем для разработки новых селективных ингибиторов HDACs, используемых в качестве потенциальных нейропротекторов.

Результаты работы опубликованы в международных журналах первого и второго квартиля, индексируемых в Web of Science, Scopus, и РИНЦ. Таким образом, диссертация Дзрян В.А. «Ацетилирование и деацетилирование факторов транскрипции p53 и E2F1 клеток периферической нервной системы после аксотомии» является научно-квалификационной работой, которая по методическому уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 и № 748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г., № 426 от 20.03.2021г.), а ее автор,

Дзряян Валентина Александровна, заслуживает присуждения искомой
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. –
«Биохимия».

Кандидат физико-математических наук,
Старший научный сотрудник
лаборатории «Биосовместимых матриц и тканевой инженерии»
НИЦ «Курчатовский Институт»
Михайлова Мария Михайловна



Адрес: 123182 Россия, Москва,
пл. Академика Курчатова, д. 1
Тел: +7-905-767-31-69;
e-mail: mashulenska79@yahoo.com

Подпись Михайловой М.М. заверяю,
Главный ученый секретарь
НИЦ «Курчатовский институт» К.Е. Борисов



«01» марта 2023 г.