

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д001.003.01

на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» по диссертации Лысиковой Е.А. на тему «Новая модель фронто-темпоральной деменции на трансгенных мышах с медленно прогрессирующей FUS-протеинопатией» на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 27 февраля 2020 г. № 3
о присуждении Лысиковой Екатерине Андреевне, гражданке РФ,
учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Новая модель фронто-темпоральной деменции на трансгенных мышах с медленно прогрессирующей FUS-протеинопатией» по специальностям 14.03.03 – патологическая физиология, 03.01.04 – биохимия принята к защите 19 декабря 2019 года, протокол № 12 диссертационным советом Д001.003.01 на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8. Приказ Рособнадзора о создании диссертационного совета № 1925-1299 от 09.09.2009; Приказы Минобрнауки о внесении изменений в состав совета № 656/нк от 23.06.2015; №1252/нк от 14.10.2016).

Соискатель Лысикова Екатерина Андреевна 1993 года рождения, в 2015 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова». С 2015 по 2019 год аспирант лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологически активных веществ РАН.

В настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов ФГБУН «Институт физиологически активных веществ» РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» РАН и лаборатории молекулярной физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Научные руководители:

Нинкина Наталья Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией генетического моделирования нейродегенеративных процессов

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» РАН.

Устюгов Алексей Анатольевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биологических испытаний Федерального государственного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» РАН.

Официальные оппоненты:

Пинелис Всеволод Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ.

Мошковский Сергей Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. Выявленные замечания не несут принципиального характера и не влияют на положительную оценку диссертации.

Ведущая организация: «Институт перспективных исследований мозга» Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова».

В своём положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, директором «Института перспективных исследований мозга» МГУ им. М.В. Ломоносова, Анохиным Константином Владимировичем. и утверждённым проректором-начальником управления научной политики и организации научных исследований МГУ им. М.В. Ломоносова, Федяниным А.А., указано, что диссертация является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим новое решение актуальной проблемы патофизиологии – создание модели трансгенных животных, моделирующих фронто-темпоральную деменцию, в основе развития которой лежит патологическая агрегация белка FUS. Результаты работы имеют практическое исследование для изучения патогенеза ФТД и для дальнейшего исследования молекулярных каскадов для определения мишеней при разработке терапии.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, в том числе по теме

диссертации 3 работы, которые опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов по теме диссертации.

Работы по теме диссертации:

1. Roman A.Yu., Limorenko G., Ustyugov A.A., Tarasova T.V., **Lysikova E.A.**, Buchman V.L., Ninkina N. Generation of mouse lines with conditionally or constitutively inactivated Snca gene and Rosa26-stop-lacZ reporter located in cis on the mouse chromosome 6// Transgenic Res. – 2017. – Vol.26(2) . – P.301-307.
2. **Лысикова Е.А.**, Чапров К.Д., Иванова Т.А., Устюгов А.А., Овчинников Р.К., Кухарский М.С., Коршунов Е.А., Дейкин А.В., член-корр.РАН Бачурин С.О., Нинкина Н.Н. Нарушение когнитивной функции у трансгенных мышей со сниженным уровнем экспрессии патогенной формы белка FUS человека// Патогенез. . – 2019. – Т.17. – № 1. – С. 41-49.
3. **Lysikova E.A.**, Kukharsky M.S., Chaprov K.D., Ustyugov A.A., Vasilieva N.A., Deykin A.V., Bachurin S.O., Ninkina N., Buchman V.L. Behavioural impairments in mice of a novel FUS transgenic line recapitulate features of frontotemporal lobar degeneration// Genes, Brain and Behavior. – 2019. – Vol. 18(8) . – P. e12607.

На автореферат поступили отзывы, которые содержат положительную оценку работы. Замечаний по автореферату и его оформлению нет. В полученных отзывах подчёркивается актуальность создания животных моделей с ключевыми характеристиками фенотипа фронто-темпоральной деменции на основе патогенной агрегации белка FUS. Выявляется возможность использования данной линии трансгенных животных для изучения механизмов агрегации мутантного белка FUS, лежащего в основе развития многих протеинопатий. Отражённые в автореферате результаты анализа транскриптомов спинного мозга трансгенных мышей создают важную экспериментальную основу для поиска молекулярных мишеней и фармакологических методов терапии FUS-протеинопатий.

Отзывы прислали:

1. Бобынцев Игорь Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет Минздрава России

2. Бочаров Евгений Владимирович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунофармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»

Минздрава России

3. Кинзирский Александр Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора научно-исследовательского института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России

4. Левицкая Наталья Григорьевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

5. Макаров Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии имени В.А.Энгельгарда»

6. Проскурякова Татьяна Васильевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории психофармакологии Национального научного центра наркологии – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России

7. Чаусова Светлана Витальевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой общей патологии Медико-биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной области исследования и имеют соответствующие публикации, размещённые на сайте института (www.niiorr.ru).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Впервые получены и исследованы трансгенные животные, у которых в экспериментальных условиях произошло инвертирование характерного для оригинальной линии tg_hFUS[1-359] фенотипа бокового амиотрофического склероза на фенотип фронто-темпоральной деменции.

Было показано, что при снижении экспрессии патогенной формы белка FUS человека в клетках нервной системы могут блокироваться механизмы

развития нейродегенеративного процесса в двигательных нейронах.

Разработана новая научная идея о влиянии низкого уровня экспрессии патогенной формы белка FUS на способность двигательных нейронов спинного мозга активировать защитные клеточные механизмы для подавления острой формы FUS-протеинопатии.

Впервые проведён анализ транскриптомов спинного мозга L-FUS[1-359] мышей, позволивший определить группы генов с изменённой экспрессией и идентифицировать кодируемые ими белки, которые могут быть вовлечены в активацию собственных внутриклеточных защитных систем двигательных нейронов для купирования FUS-протеинопатии.

Теоретическую значимость исследования представляет экспериментальное доказательство того, что даже высоко патогенная форма белка FUS не может быть триггером протеинопатии в двигательных нейронах в концентрациях ниже определенного критического значения, после превышения которого защитные механизмы нейрона не способны осуществлять эффективную контролируемую деградацию патогенных форм FUS.

Практическую значимость работы составляет созданная новая трансгенная модель фронто-темпоральной деменции на трансгенных мышях L-FUS[1-359] без развития сопутствующей моторной дисфункции. Новая линия может быть использована в исследованиях для изучения механизма агрегации мутантных белков, а также применена для поиска новых нейропротекторных препаратов с механизмом действия, направленным на сохранение и восстановление функции повреждённых нейронов.

Доказана перспективность исследования новой линии трансгенных животных для изучения механизма агрегирования патогенной формы белка FUS при развитии фенотипа фронто-темпоральной деменции.

Обоснованы положения, вносящие вклад в расширение представлений о вовлечённых в механизмы подавления патологической агрегации белка генов различных семейств, которые были описаны у трансгенных животных линии L-FUS[1-359].

Полученные в работе данные являются основой для дальнейшего исследования молекулярных механизмов, лежащих в основе подавления нейродегенеративного процесса.

Диссертация выполнена с помощью комплекса современных молекулярно-биохимических методов, состоящего из базовых методов анализа ПЦР в реальном времени и ОТ-ПЦР в реальном времени для детекции числа копий и уровня экспрессии трансгенной кассеты, а также иммуноблоттинг и иммуногистохимический анализ для определения

патогенной формы белка в тканях нервной системы, FISH-гибридизация для локализации места встраивания трансгенной кассеты в геноме трансгенных животных, поведенческие тесты для выявления группы нарушений когнитивных функций и социального поведения у трансгенных мышей и метод секвенирования РНК для анализа изменения экспрессии разных групп генов в спинном мозге животных L-FUS[1-359] по сравнению с контрольными животными дикого типа.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается достаточным объёмом набранного материала, современными и адекватными методами статистической обработки и апробацией данных диссертационной работы в 15-ти научных публикациях, среди которых 3 публикации в научных изданиях из перечня рецензируемых научных изданий ВАК РФ и 12 работ в материалах сборниках конференций.

Сделанные **выводы** диссертационной работы полностью отвечают поставленным задачам и целям исследования и соответствуют результатам.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном планировании эксперимента и разработке основной научной идеи. Все основные эксперименты, обработка и интерпретация полученных экспериментальных данных, а также статистическая обработка проводилась автором лично. Анализ хромосомной локализации трансгенной кассеты методом флуоресцентной *in situ* гибридизации выполнен автором совместно с S. Boyle в Институте генетики и молекулярной медицины университета Эдинбурга, Великобритания. Биоинформационный анализ был проведён на базе института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта совместно с С.Ю. Фуниковым и А.П. Резвых.

Диссертация Лысиковой Е.А. «Новая модель фронто-темпоральной деменции на трансгенных мышах с медленно прогрессирующей FUS-протеинопатией» по специальностям 14.03.03 – патологическая физиология и 03.01.04 – биохимия соответствует пункту 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в редакции постановления Правительства РФ №1168 от 01.10.2018 г.). В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 27 февраля 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Лысиковой Е.А. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в

количестве 21 человек, из них 17 докторов наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, и дополнительно введенных на разовую защиту 3 докторов наук по специальности 03.01.04 – биохимия, проголосовали: за 21, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Кубатиев Аслан Амирханович

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Скуратовская Лариса Николаевна

27 февраля 2020 г.