

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук, профессора, главного научного сотрудника  
лаборатории нейробиологии и основ развития мозга Федерального  
государственного автономного учреждения «Национальный медицинский  
исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации Пинелиса Всеволода Григорьевича на диссертацию  
Устюгова Алексея Анатольевича «Стратегия поиска препаратов для лечения  
нейродегенеративных заболеваний на основе трансгенных клеточных и  
животных моделей протеинопатий», представленную на соискание учёной  
степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 –  
патологическая физиология.

### **Актуальность**

Диссертационная работа Устюгова А.А. «Стратегия поиска препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний на основе трансгенных клеточных и животных моделей протеинопатий» посвящена крайне актуальной проблеме изучения механизмов развития и поиска подходов к созданию средств лечения нейродегенеративных заболеваний. Острая востребованность работ в этой области подтверждена печальной общемировой и отечественной статистикой, отмечающей нарастающее число больных нейродегенеративными заболеваниями, что связано с увеличением средней продолжительности населения в развитых странах. При этом до настоящего времени остаются недостаточно изученными механизмы нейродегенерации и нейропротекции при этих состояниях, что наряду с отсутствием до последнего времени адекватных биологических систем, моделирующих такого рода патологии существенно сдерживает поиск эффективных способов их лечения. В этой связи исследование молекулярных механизмов нейродегенеративных заболеваний с помощью разработанных трансгенных клеточных и животных моделей, а также применением этих моделей для поиска новых препаратов, направленных на коррекцию нейропатологии представляется крайне актуальным. Прежде всего это касается патологий, связанных с прогрессирующей гибелью нервных клеток

при таких заболеваниях как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз и ряда других. Однако, несмотря на гетерогенность заболеваний этой группы, для них характерны некоторые общие механизмы, а именно, патологическая агрегация конформационно-изменённых и часто потенциально амилоидогенных белков, таких как тау,  $\beta$ -амилоидные пептиды, синуклеины, TDP-43, FUS и др., сопровождающаяся образованием характерных патогистологических включений. Несмотря на то, что каждое заболевание обусловлено нарушением метаболизма и агрегацией определенного белка или набора белков, а распределение белковых включений как внутри клетки, так и по отделам нервной системы значительно варьируется, схожий молекулярный механизм патогенеза позволил объединить подобные заболевания в группу т.н. протеинопатий. Для этой группы нейропатологий характерно изменение структуры, нарушение метаболизма и агрегация ряда белков, потеря их функции, сопровождаемая формированием специфических гистопатологических белковых включений в разных отделах нервной системы. Важным инструментом для исследования молекулярных изменений, ведущих к развитию протеинопатий, является их моделирование в *in vitro* и *in vivo* моделях с использованием клеточных линий и генетически модифицированных лабораторных животных.

Современные успехи генетики способствовали не только установлению точного места нарушения в структуре гена, выявлению экспрессии определенных белков, но и позволили изучать процесс патогенеза генетических заболеваний на созданных мутагенных линиях различных генетических заболеваний, объединенных в группу протеинопатий. Кроме того, появилась возможность коррекции выявленных изменений с помощью потенциальных лекарственных препаратов, действие которых направлено на блокаду развития патологической агрегации белков. К числу таких веществ принадлежит и препарат Димебон, прошедший клинические испытания на больных болезнью Альцгеймера и некоторые его производные в ряду гамма-карболинов.

Представленная к защите работа Устюгова А.А. посвящена изучению механизмов развития определенных типов протеинопатий на вновь созданных уникальных линиях трансгенных животных, которые могут воспроизводить ключевые звенья нейропатологии *in vivo*, а также быть использованы для отбора и изучения нейропротекторной эффективности терапевтических подходов, и в этой связи является своевременным и актуальным для современной фундаментальной патофизиологии и трансляционной медицины комплексным научным исследованием. Реализация задач, поставленных и решенных в данной работе позволит существенно оптимизировать разработку патогенетической терапии НДЗ.

**Научно-практическая значимость работы определяется установлением следующих основных закономерностей:**

1. Диссертантом разработана новая концепция моделирования протеинопатий основанная на изменении экспрессии таргетного гена, в частности, с использованием с использованием Cre-рекомбиназы, позволяющая проводить прижизненную инактивацию гена во встроенной в геном генетической конструкции. Такой подход был реализован впервые для моделирования потери функционального пула альфа-синуклеина.

2. Впервые использована укороченная модифицированная форма FUS человека, генетическая конструкция которого была сначала валидирована на клеточных линиях. Такой подход позволил отобрать наиболее адекватную мутантную форму FUS, которая затем была использована для получения трансгенной линии животных. Важно отметить, что для реализации специфической экспрессии мутантного FUS человека был выбран пан-нейрональный промотер, который обеспечил сценичность экспрессии трансгена в нейрональных тканях.

3. Разработаны и охарактеризованы линии трансгенных животных, которые использовались в качестве тест-систем для направленного поиска и отбора новых соединений, что позволило выявить новые препараты, способные

