

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.003.01

на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» по диссертации Устюгова Алексея Анатольевича «Стратегия поиска препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний на основе трансгенных клеточных и животных моделей протеинопатий» на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 18 февраля 2021 г. № 1
о присуждении Устюгову Алексею Анатольевичу, гражданину РФ, учёной степени
доктора биологических наук.

Диссертация «Стратегия поиска препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний на основе трансгенных клеточных и животных моделей протеинопатий» (экспериментальное исследование) по специальности 14.03.03 – патологическая физиология принята к защите 08 октября 2020, протокол №12 диссертационным советом Д001.003.01 на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8. Утверждён приказом 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, №851нк от 24.09.2019, №1203нк от 12.12.2019).

Соискатель Устюгов Алексей Анатольевич 1980 года рождения, гражданин РФ. В 2002 году окончил химический факультет Витворт Колледжа (г. Спокан, США) со степенью «бакалавр наук». В 2007 году окончил факультет молекулярных биологических наук Университета штата Вашингтон (г. Пулман, США), где защитил дипломную работу на тему: «Экспрессия и функция белка теплового шока Hsp27 в эмбриогенезе *Danio rerio*» и получил степень «магистр наук». С 2007 по 2010 г. обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук, после окончания которой защитил кандидатскую диссертацию по специальности 03.01.04 – «биохимия» на тему: «Моделирование синуклеинопатии у трансгенных животных с целью изучения механизма действия нейропротекторных препаратов» в диссертационном совете 002.247.01 по биологическим наукам, созданном при Учреждении Российской академии наук Институте биохимии имени А.Н. Баха РАН (119071 г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2).

С 2007 работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН). С 2019 г по настоящее время в должности заведующего лабораторией биологических испытаний и начальника Центра доклинических испытаний ИФАВ РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории биологических испытаний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институте физиологически активных веществ РАН.

Научный консультант:

Бачурин Сергей Олегович – доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела медицинской и биологической химии, научный руководитель Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Гудашева Татьяна Александровна – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела химии лекарственных средств Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова».

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 Российской Федерации.

Мухамедьяров Марат Александрович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Отзывы официальных оппонентов положительные, в них дана высокая оценка представленной работы. На поставленные в отзывах вопросы Устюговым А.А. даны исчерпывающие ответы.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина» (г. Москва) в своём положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией нейробиологии памяти ФГБНУ «НИИНФ им. П.К. Анохина», доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН Анохиным Константином Владимировичем, указывает, что диссертация является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим решение актуальной задачи современной патофизиологии, а именно - моделирование нейродегенеративных процессов в клеточных и животных трансгенных моделях и использование разработанных моделей для поиска и отбора эффективных нейропротекторных препаратов, что имеет существенное значение для развития патологической физиологии и медицины.

Диссертация соответствует пункту 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01 октября 2018г.), а её автор, Устюгов Алексей Анатольевич, заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 — патологическая физиология.

Отзыв ведущей организации содержит два вопроса, на которые Устюговым А.А. даны исчерпывающие ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной отрасли науки, а также наличием у них публикаций по исследованиям близким к проблеме диссертационной работы соискателя (публикации размещены на сайте ФГБНУ «НИИОПП»: www.niioopp.ru), и, таким образом, способны определить научную и практическую ценность диссертации.

Соискатель имеет 46 печатных научных работ, которые рекомендованы ВАК Минобрнауки РФ для публикации материалов диссертационных работ (16 статей в изданиях, входящих в Q1/Q2), а также один патент РФ (№2490268, 2013). В них представлены результаты исследований по изучению роли патогенных белков при протеинопатиях, характеристике разработанных моделей, а также исследованию эффективности новых препаратов с нейропротекторной активностью.

1. **Устюгов А.А.**, Аксиненко А.Ю., Вихарев Ю.Б., Малеев Г.В., Небогатиков В.О., Васильева Н.А., Шевцова Е.Ф., Бачурин С.О. Фторированные γ -карболины – соединения, замедляющие развитие когнитивных и моторных дисфункций в трансгенной модели нейродегенеративных заболеваний // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2020. – №4. – С. 781-786.

2. Funikov S.Y., Rezvykh A.P., Mazin P.V., Morozov A.V., Maltsev A.V., Chicheva M.M., Vikhareva E.A., Evgen'ev M.B., **Ustyugov A.A.** FUS(1-359) transgenic mice as a model of ALS: pathophysiological and molecular aspects of the proteinopathy // Neurogenetics. – 2018. – Vol. 19. – № 3. – P.189-204.

3. **Ustyugov A.A.**, Shevtsova E.F., Barreto G.E., Ashraf G.M., Bachurin S.O., Aliev G. New therapeutic property of Dimebon as a neuroprotective agent // *Current Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 25. – № 39. – P. 5315-5326.
4. Bachurin S.O., Bovina E.V., **Ustyugov A.A.** Drugs in Clinical Trials for Alzheimer's Disease: The Major Trends // *Medicinal Research Reviews*. – 2017. – Vol. 37. – № 5. – P. 1186-1225.
5. Скворцова В.И., Бачурин С.О., Разинская О.Д., Смирнов А.П., Ковражкина Е.А., Почигаева К.И., Нинкина Н.Н., Шелковникова Т.А., **Устюгов А.А.** Новые аспекты патогенеза бокового амиотрофического склероза // *Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова*. – 2011 – Т. 2 – с. 4-9.

На автореферат от специалистов по теме диссертации поступило 6 отзывов без критических замечаний. Отзывы прислали:

1. **Гарабаджиу Александр Васильевич** – доктор химических наук, профессор, проректор по научной работе Санкт-Петербургского государственного технологического института (технологического университета).
2. **Гольдштейн Дмитрий Вадимович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»;
3. **Гривенников Игорь Анатольевич** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной генетики соматических клеток Федерального государственного бюджетного учреждения Института молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»;
4. **Захарова Мария Николаевна** – доктор медицинских наук, профессор, руководитель 6-го неврологического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии»;
5. **Силачѳв Денис Николаевич** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии двигательных систем Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова;
6. **Угрюмов Михаил Вениаминович** – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией нервных и нейроэндокринных регуляций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук.

Все отзывы положительные, в них отмечают:

- актуальность темы диссертации – решение важной для патологической физиологии научной проблемы по изучению фундаментальных молекулярных механизмов нейродегенеративных процессов, в основе которых лежит патологическая агрегация белков.

- новизна полученных данных – представлены новые клеточные модели протеинопатий, а также описаны создание и характеристики новой животной модели синуклеинопатии с регулируемой экспрессией альфа-синуклеина, проведена впервые комплексная характеристика модели бокового амиотрофического склероза, основанная на эктопной экспрессии укороченной формы белка FUS, которая включала оценку поведенческого фенотипа, биохимического и иммуногистохимического анализа нервных тканей с подробным описанием патологических процессов в сравнении с болезнями человека. Впервые показана эффективность действия фторированных производных гамма-карболинов на модели БАС.

- практическая значимость работы – возможность использования разработанных клеточных и животных моделей нейродегенеративных заболеваний человека для изучения молекулярных патологических аспектов, которые лежат в основе протеинопатий, а также использованию этих моделей при изучении механизмов действия и отбора эффективных

нейропротекторных препаратов. На основании этих разработок получен патент РФ №2490268.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **результаты работы подтверждают и развивают** научную концепцию о ведущей роли патологической агрегации патогенных форм белков при протеинопатиях;

- **экспериментально обосновано** использование такого подхода для воспроизведения нейродегенеративных состояний человека в трансгенных животных моделях;

- **экспериментально доказано**, что продукция патологических изоформ белков в клеточной культуре приводит к их поэтапному накоплению и как результат к гибели клеток, что свидетельствует о патологической роли агрегации белков в клетках. В одной из созданных моделей протеинопатии накопление патогенных изоформ белка FUS в тканях нервной системы у животных приводит к появлению фенотипических признаков аналогичных соответствующим проявлениям у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом (БАС);

- **введено новое понятие** FUS-протеинопатия, которое описывает патологическое состояние при агрегации aberrantных форм белка FUS человека в трансгенных животных, которые воспроизводят состояния аналогичные клинической картине БАС;

- **предложены способы коррекции** патологических состояний при протеинопатиях у животных с использованием перспективных фторированных производных гамма-карболинов, зарекомендовавших себя в исследованиях соискателя в качестве безопасных и эффективных нейропротекторов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказано**: патологическое накопление белков и их изменённая компартиментализация приводит к клеточной гибели и, как результат, к появлению у животных когнитивных и двигательных отклонений, схожих по своим патофизиологическим признакам с характерной неврологической симптоматикой у пациентов с нейродегенеративными расстройствами, что **расширяет представления** о роли агрегации белков в патогенезе нейродегенеративных болезней;

- **применительно к проблематике** диссертации результативно и **эффективно использован** комплекс современных методов исследования из арсенала патогистологии, молекулярной биологии, биохимии, клеточной биологии, поведенческое тестирование, а также использованы новейшие трансгенные технологии для создания животных моделей протеинопатий;

- **изложены** факты и доказательства сформулированной автором гипотезы об истощении пула функциональных белков в виде снижения экспрессии или наоборот путём накопления в патологических агрегатах в патогенезе нейродегенеративного процесса, приводящего к гибели нейронов;

- **раскрыты** механизмы нейропротекторного действия фторированных производных гамма-карболинов и роль продукции укороченной формы белка FUS человека в организме трансгенных мышей, что приводит к дисрегуляции метаболизма сфингоидных оснований, включая сфингозин, сфинганин и сфингозин-1-фосфат, преимущественно в спинном мозге мышей;

- **показана** зависимость терапевтической эффективности гамма-карболинов от наличия фторированных групп в составе молекулы, а также зависимость экспрессии генов в линии животных с FUS-протеинопатией от фазы заболевания животных.

Практическое значение работы заключается в том, что:

- **предложено** применение созданных моделей в качестве тест-систем для отбора и изучения эффективности новых нейропротекторных препаратов, воздействующих на агрегацию белка, как основное звено патогенеза протеинопатии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ в диссертационном исследовании были использованы стандартное сертифицированное оборудование (световые, флуоресцентные, конфокальные и электронные микроскопы, центрифуги) и современные экспериментальные методы молекулярной биологии, биохимии, гистологии и новейшие биоинженерные и клеточные технологии, полностью соответствующие цели и поставленным задачам;

наиболее значимые результаты исследований, послужившие основой для построения центральной теории о патологической роли агрегации белков FUS при протеинопатии и селективной гибели нейронов при накоплении отложений, проверены и воспроизведены на различном уровне и с использованием адекватных методических подходов, включая гистологический и патоморфологический анализ, а также моделирование нейродегенеративного процесса в организме трансгенных животных;

все результаты получены с использованием сертифицированного и валидированного оборудования и материалов;

разработанная научная концепция базируется на результатах многолетних исследований, проведённых на обширном уникальном экспериментальном материале, полученном автором в исследованиях, и использовании для сравнения и критического анализа данных, опубликованных ведущими отечественными и мировыми лабораториями, работающими в области изучения патогенеза нейродегенеративных болезней и создания трансгенных животных моделей заболеваний человека;

научные положения и выводы, содержащиеся в работе, соответствуют цели исследования, обоснованы экспериментальными фактами;

результаты исследований опубликованы в отечественных и зарубежных профильных изданиях, апробированы на отечественных и международных конференциях и симпозиумах.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах процесса, включая планирование экспериментальной работы, получение исходных данных лично либо под непосредственным контролем соискателя, обработку и интерпретацию данных, полученных в экспериментах, выполненных лично автором или при участии сотрудников возглавляемой им лаборатории. Эксперименты по созданию экспрессионных векторов и исследованию нейропротекторных свойств гамма-карболинов проведены в коллективе авторов совместно с лабораториями генетического моделирования нейродегенеративных процессов и биомолекулярного скрининга, лабораторией синтеза физиологически активных соединений ИФАВ РАН. Автор самостоятельно провёл статистическую обработку, анализ и интерпретацию полученных результатов. Им подготовлены основные публикации по выполненной работе и материалы по её апробации.

На заседании 18 февраля 2021 г. диссертационный совет принял решение:

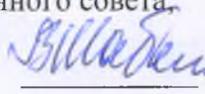
- диссертация Устюгова А.А. соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01 октября 2018 г.), так как совокупность основных положений работы можно квалифицировать как крупное достижение в области изучения роли агрегации белков в патогенезе нейродегенеративных процессов на основе разработанных клеточных и организменных моделей протеинопатий, что имеет существенное значение для развития патологической физиологии и медицины;

- в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- присудить Устюгову Алексею Анатольевичу учёную степень доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет Д001.003.01 в количестве 17 человек, из них 17 докторов наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» – 17, «против» – нет, недействительных бюллетеней нет.

Заместитель председателя диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН


Шабалин Владимир Николаевич

И.о. учёного секретаря диссертационного совета
доктор медицинских наук


/Кожевникова Любовь Михайловна

18 февраля 2021

