

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.180.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ И
ПАТОФИЗИОЛОГИИ», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 23 декабря 2021 г. №11

О присуждении Голоборщевой Валерии Владимировне, гражданке РФ, гражданке РФ, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Особенности МФТП-индуцированного паркинсонизма на мышцах с генетическим нокаутом альфа-синуклеина» по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология принята к защите 21 октября 2021 года, протокол №8, диссертационным советом 24.1.180.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель **Голоборщева Валерия Владимировна**, 1994 года рождения.

В 2018 году соискатель окончила медико-биологический факультет Волгоградского государственного медицинского университета, по специальности «Медицинская биохимия», выдавшем диплом о высшем образовании. В 2021 году окончила аспирантуру в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (ФГБНУ «НИИОПШ») по специальности «Патологическая физиология». В настоящее

время работает младшим научным сотрудником в лаборатории общей патологии нервной системы ФГБНУ «НИИОПП».

Диссертационная работа «Особенности МФТП-индуцированного паркинсонизма на мышцах с генетическим нокаутом альфа-синуклеина» выполнена в лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Научные руководители:

Кучеряну Валериян Григорьевич – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»;

Овчинников Руслан Константинович – кандидат медицинских наук (14.03.03), научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук, доцент кафедры биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

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 Российской Федерации,

Худоерков Рудольф Михайлович – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Федерального

государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии»,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) в своем положительном заключении, подписанном заведующим кафедрой нормальной физиологии института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) доктором медицинских наук, доцентом Умрюхиным Алексеем Евгеньевичем, указано, что «диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи раскрытия роли альфа-синуклеина в патогенетических механизмах МФТП-индуцированного экспериментального паркинсонизма с использованием линий нокаутных животных. Диссертация соответствует пунктам 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в последующих редакциях Постановлений Правительства Российской Федерации), а ее автор, Голоборщева Валерия Владимировна, заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология». Отзыв обсужден и одобрен на расширенной научно-методической конференции сотрудников кафедры нормальной физиологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского и сотрудников кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 5 от 01.12.2021.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 13 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 работ. В статьях изложены основные результаты проведенных исследований. Из них большинство публикаций написаны в соавторстве, что обосновано комплексным характером проведенных исследований, авторский вклад Голоборщевой Валерии Владимировны допускает использование опубликованного материала для защиты диссертации. Недостоверные сведения о работах, опубликованных соискателем ученой степени, в диссертации отсутствуют. Сведения об опубликованных работах представлены в диссертации.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Tarasova T.V., Lytkina O.A., **Goloborshcheva V.V.**, Skuratovskaya L.N., Antohin A.I., Ovchinnikov R.K., Kukharsky M.S. Genetic inactivation of alpha-synuclein affects embryonic development of dopaminergic neurons of the substantia nigra, but not the ventral tegmental area, in mouse brain // PeerJ. – 2018. – V. 6. – P. e4779; DOI: 10.7717/peerj.4779; IF = 2.2 (JCR) Q2
2. Нинкина Н.Н., Тарасова Т.В., Чапров К.Д., **Голоборщева В.В.**, Бачурин С.О., Бухман В.Л. Дефицит синуклеинов снижает эффективность захвата дофамина синаптическими везикулами. // Доклады Академии наук. – 2019. – Т. 486. – № 1. – С. 114-117. DOI: 10.31857/S0869-56524861114-117
3. **Goloborshcheva V.V.**, Chaprov K.D., Teterina E.V., Ovchinnikov R., Buchman V.L. Reduced complement of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of mice with a constitutive genetic knockout of alpha-synuclein // Mol Brain. – 2020. – V. 13. – № 1. – P. 75. DOI: 10.1186/s13041-020-00613-5; Q1
4. Чапров К.Д., **Голоборщева В.В.**, Тарасова Т.В., Тетерина Е.В., Корокин, М.В., Солдатов В.О., Покровский М.В., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г., Овчинников Р.К. Повышение экспрессии гена мультимерина-1 в нервной системе мышей как результат геномной модификации локуса альфа-синуклеина. Доклады Академии наук. Науки о жизни. – 2020. – Т. 494 – С. 537–540. Doi: 10.31857/S2686738920050078

5. Чапров К.Д., Тетерина Е.В., Роман А.Ю., Иванова Т.А., Голоборщева В.В., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г., Лысикова Е.А., Лыткина О.А., Королева И.В., Попова Н.Я., Антохин А.И., Овчинников Р.К., Кухарский М.С. Сравнительный анализ нейротоксического эффекта МФТП на двух линиях мышей с конститутивным нокаутом гена альфа-синуклеина // Молекулярная биология – 2021. – Том 55, №1, с. 152-163. DOI: 10.31857/S0026898421010031
6. Голоборщева В.В., Воронина Н.А., Овчинников Р.К., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г. Моделирование МФТП-индуцированного паркинсонизма на генетически модифицированных мышцах // Патогенез. – 2021. –Т. 19, № 2. – С. 12-23. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.12-23
7. Голоборщева В.В., Воронина Н.А., Овчинников Р.К., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г. Морфометрический анализ дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга мышей с генетическим нокаутом альфа-синуклеина при МФТП-индуцированном паркинсонизме // Патогенез. – 2021. – Т. 19. – №3 – С. 32-37. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.32-37

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

на диссертацию: заключение организации, где выполнялась работа – ФГБНУ «НИИОПП», заключение положительное, содержит рекомендацию к защите; отзыв ведущей организации – ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) – заключение положительное, содержит вопросы, на которые соискатель дал исчерпывающие ответы;

отзывы на автореферат прислали:

1. **Киселев Иван Сергеевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики сердечно-сосудистых заболеваний Научно-исследовательского института Экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения Национальный медицинский исследовательский

- центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации;
2. **Косырева Анна Михайловна**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией нейроморфологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт имени академика А.П.Авцына»;
 3. **Кохан Виктор Сергеевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории психофармакологии Национального научного центра наркологии – Филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
 4. **Литвинов Роман Александрович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
 5. **Пчелина Софья Николаевна**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»;
 6. **Еникеев Дамир Ахметович**, доктор медицинских наук, профессор, почетный заведующий кафедрой патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В отзывах отмечается актуальность и новизна исследования, хороший методический уровень работы, практическая значимость. Все отзывы положительные, принципиальных замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается профилем выполненной диссертационной работы:

Пинелис Всеволод Григорьевич – специалист в области нейробиологии, патофизиологии и лабораторной генетики;

Худоерков Рудольф Михайлович – специалист в области нейроморфологии, а также цитохимии белков в структурно-функциональной организации мозга.

Научная работа кафедры нормальной физиологии института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского и кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) соответствует профилю работы Голоборщевой В.В.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

доказано, что генетическая инактивация альфа-синуклеина приводит к снижению общего числа дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки; введение нокаутным животным МФТП не влияет на число дофаминергических нейронов, но индуцирует манифестацию поведенческих и биохимических признаков экспериментального паркинсонизма;

доказано, что генетическая инактивация альфа-синуклеина предотвращает снижение общего числа дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки в модели МФТП-индуцированного паркинсонизма, но не манифестацию поведенческих и биохимических признаков экспериментального паркинсонизма; генетическая инактивация всех трёх членов семейства синуклеинов при введении МФТП не влияет на выживаемость дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки, и на уровень дофамина и продуктов его

метаболизма, но предотвращает развитие моторных нарушений, характерных для паркинсонизма;

разработана научная идея о том, альфа-синуклеин вовлечён в процессы специфического поражения дофаминергических нейронов черной субстанции и вентральной области покрышки мозга в условиях МФТП-индуцированного паркинсонизма.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что инактивация альфа-синуклеина приводит к снижению общего числа дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки, но оказывает нейропротекторный эффект на дофаминергические нейроны черной субстанции в субхронической модели МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома;

применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий набор патофизиологических методов: в работе использованы нокаутные линии мышей – Abel-KO, ΔFlox-KO, β-KO, γ-KO, а также новые линии, выведенные в ходе работы; поведенческое тестирование включало тест на вертикальном шесте, тест «перевернутая сетка», многофункциональный метод исследования двигательной активности на установке CatWalk XT; молекулярно-биологические методы включали генотипирование потомства, детекцию мутантных аллелей методом конвенционной ПЦР, оценку уровней экспрессии мРНК методом количественной ОТ-ПЦР; биохимические методы включали электрофорез ДНК-фрагментов в агарозном геле, анализ нейрохимических веществ полосатого тела методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ); гистологическое исследование включало приготовление гистологических препаратов, иммуногистохимическое окрашивание срезов, морфометрический анализ дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки; статистический анализ полученных данных проводили с использованием программных пакетов Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США) и GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., США);

изучены особенности патогенеза МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома у двух линий мышей с избирательной инактивацией гена альфа-синуклеина (Abel-КО и Δ Flox-КО), а также линии бессинуклейнового нокаута (abg-КО);

показано, что привнесённые в модифицированный локус альфа-синуклеина в линии Abel-КО посторонние последовательности повышают уровень экспрессии гена мультимерина-1 в нервной ткани, в то время как уровни экспрессии в линии Δ Flox-КО не отличаются от таковых в контрольных мышах с интактным геномом.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: линию избирательного нокаута альфа-синуклеина Δ Flox-КО, а также созданную на её основе линию abg-КО с делецией генов α -, β -, γ -синуклеинов, впервые использовали для моделирования паркинсонического синдрома; полученные данные об особенностях МФТП-индуцированного паркинсонизма у животных данных линий могут быть полезны для разработки таргетной терапии паркинсонизма в отношении семейства белков-синуклеинов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: результаты получены в грамотно спланированном и выполненном исследовании с одобрения локального Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП»; в исследовании использовались стандартизированные методы; достоверность результатов исследования обусловлена достаточным объемом выборки данных;

теория построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными результатами по теме диссертации;

идея базируется на анализе и обобщении передового отечественного и зарубежного опыта, а также на экспериментальных и клинических данных;

использованы современные методы сбора, анализа и статистической обработки данных, проведено сравнение авторских данных и полученных

ранее результатов из доступных в литературе источников, научные выводы и положения обоснованы.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса подготовки диссертационной работы. Соискатель является основным исполнителем всех этапов проведенного исследования и анализа литературных данных по теме диссертации, проводил практическую часть исследовательской работы, анализ полученных данных, статистическую обработку и обобщение полученных результатов. При активном участии автора подготовлены публикации и материалы для научно-практических конференций по результатам диссертационной работы.

На заседании 23 декабря 2021 года диссертационный совет **принял решение:** за решение научной задачи по раскрытию роли альфа-синуклеина в патогенетических механизмах МФТП-индуцированного экспериментального паркинсонизма с использованием линий нокаутных животных, присудить Голоборщевой Валерии Владимировне ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 17 докторов наук по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета 24.1.180.01
доктор медицинских наук,
профессор, член-корреспондент РАН

Морозов Сергей Георгиевич

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.180.01
доктор биологических
наук, доцент

Панкова Наталия Борисовна

23 декабря 2021 г.

