

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ
ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук
(ИЭФБ РАН)

пр. Тореза, д. 44, г. Санкт-Петербург, 194223
тел.: 552-79-01, факс: 552-30-12
e-mail: office@iephb.ru, http://www.iephb.ru
ОКПО 02698559, ОГРН 1027801535728
ИНН/КПП 7802038273/780201001

26.10.2016 № *1/628*

На № _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИЭФБ РАН,

д.б.н. ФИРСОВ М.Л.



2016 г.

Отзыв

Ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН) о научно-практической значимости диссертации Сухаревой Екатерины Викторовны **«ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ КЛЮЧЕВОГО ФЕРМЕНТА СИНТЕЗА КАТЕХОЛАМИНОВ – ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ МОЗГА КРЫС В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ»** представленной в Диссертационный совет Д 001.014.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины»
03.03.01 – физиология

Диссертация Сухаревой Екатерины Викторовны посвящена важной проблеме онтогенетической нейрофизиологии – исследованию неканонического механизма действия гормонов коры надпочечников на экспрессию ключевого фермента синтеза катехоламинов – тирозингидроксилазы в головном мозге крыс в раннем онтогенезе. Глюкокортикоиды участвуют в формировании многих физиологических функций, в том числе они являются одним из факторов, отвечающих за установление связей между нейронами и в развитии нейромедиаторных систем. Нарушение гормонального баланса в перинатальном онтогенезе приводят к долговременным нарушениям в нейромедиаторных системах мозга. Однако механизмы «онтогенетического программирования» глюкокортикоидами различных нейромедиаторных систем в настоящее время остается не выясненным. Это относится и к влиянию нарушений глюкокортикоидного баланса на

формирование норадренергической системы мозга. Известно, что экспрессия гена ТГ после введения гормона во время беременности повышается и это увеличение сохраняется и в мозге взрослых животных, то есть ген ТГ является потенциальной мишенью программирующих воздействий глюкокортикоидов. Однако ген ТГ не имеет собственных рецепторов к глюкокортикоидам (GR), которые являясь транскрипционными факторами, взаимодействуют со специфическими гормон-отвечающими элементами генома. Авторы предположили на основании литературных данных, что действие гормона может быть обусловлено неканоническим механизмом взаимодействия GR с белками AP-1 комплекса. Поскольку функционирование неканонического механизма действия глюкокортикоидов *in vivo* в раннем онтогенезе не установлено, в настоящей работе был проведен анализ изменения экспрессии ТГ за счет белок-белкового взаимодействия GR с AP-1 транскрипционным фактором, для выяснения их вовлечения в механизм глюкокортикоид-зависимого «онтогенетического программирование в критические сроки формирования мозга. В работе проведено сопоставление динамики экспрессии генов Jun/Fos и белков JunB и c-Fos в раннем онтогенезе в норме и под действием глюкокортикоидов. Оценено влияние глюкокортикоидов на уровень мРНК ТГ в стволе мозга трехдневных крысят. Проведено сравнение состояния белков AP1 комплекса с уровнем экспрессии ТГ под действием дексаметазона. Также показано взаимодействие белков AP-1 комплекса с дистальным AP-1 элементом промотора ТГ при введении дексаметазона в раннем постнатальном онтогенезе. Полученные данные позволили убедительно доказать, что индукция глюкокортикоидами тирозингидроксилазы в перинатальном онтогенезе осуществляется по неканоническому действию гормонов при участии транскрипционного комплекса AP-1. Функциональные элементы этого комплекса определяют эффект глюкокортикоидов – повышенное число белков Jun и, как следствие, большее образование гомодимеров Jun/Jun, которые связываются с дистальным AP-1 элементом промотора ТГ, приводит к индуцирующему действию глюкокортикоидов. Индукция фермента, определяющего функцию медиаторной системы, в чувствительный период онтогенеза способна изменить активность и функционирование медиаторной системы мозга на протяжении длительного периода развития.

Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства.

Диссертация Сухаревой Екатерины Викторовны выполнена в соответствии с комплексным планом научных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт

цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН).

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В работе впервые выявлена глюкокортикоидная индукция ТГ в мозге 3-дневных животных. Гормональная индукция гена ТГ на 3ий день жизни вызывает долговременное изменение экспрессии гена фермента – уровни мРНК ТГ остаются повышенными в ювенильном и взрослом возрасте. Таким образом автором доказано, что последствия гормонального воздействия в «глюкокортикоид-чувствительный» период перинатального онтогенеза оставляют длительный след на экспрессию ТГ и, тем самым, на нейрохимию головного мозга в последующие периоды жизни.

Сухаревой Е.В. впервые показано преобладание количества транскриптов и белков Jun над Fos, а также большая степень взаимодействия белков JunB с AP-1 элементом промотора гена ТГ у 3-х дневных крысят (период проявления гормональной индукции гена), что свидетельствует об усилении неканонического механизма действия глюкокортикоидов. Показано, что в период проявления гормональной индукции экспрессии ТГ – в стволе мозга плодов и 3-дневных крысят, экспрессия генов семейства Jun в 5-20 раз превышает уровень мРНК генов семейства Fos по сравнению с 8-дневными крысятами, у которых гормональная индукция не проявляется. Автором впервые показаны различия в направленности изменений в уровне экспрессии c-fos под действием дексаметазона в разных структурах мозга: повышение – в коре и гиппокампе и снижение – в стволе, что приводит к еще большему увеличению соотношения c-jun/c-fos. Впервые проведена оценка взаимодействия белков JunB и c-Fos с дистальным AP-1 элементом промотора гена ТГ *in vivo*. Связывание белков семейства Jun с AP-1 элементом промотора ТГ при введении дексаметазона в ствол мозга 3-дневных крысят (период проявления гормональной индукции гена) выше, чем у 8-дневных (период нечувствительности к гормону). Выявленные автором закономерности, позволили впервые показать, что активация неканонического механизма действия глюкокортикоидов на экспрессию тирозингидроксилазы в пренатальном периоде развития, лежит в основе «онтогенетического программирования».

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Результаты исследования вносят существенный вклад в понимание механизма регуляции глюкокортикоидами ключевого фермента синтеза катехоламинов - ТГ в критические периоды раннего онтогенеза. Подтверждено приоритетное участие белков транскрипционного комплекса AP-1 в гормональной индукции гена ТГ, что является

доказательством функционирования неканонического механизма глюкокортикоидной регуляции нейрогена. Полученные данные расширяют представление об участии глюкокортикоидов в процессах «онтогенетического программирования» медиаторных систем мозга и являются основанием для понимания степени риска при проведении гормональной глюкокортикоидной терапии в пренатальном онтогенезе, что свидетельствует о высокой практической значимости проведенного исследования.

Содержание диссертационной работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методов, изложения результатов работы, их обсуждения, выводов и списка литературы (320 источников). Работа изложена на 131 страницах, содержит 3 таблицы и иллюстрирована 17 рисунками. Полученные результаты были представлены на российских и международных конференциях, а также опубликовано четыре статьи в рецензируемых журналах. Опубликованные работы отражают содержание диссертационного исследования и соответствуют существующим требованиям.

Во введении обоснована актуальность проблемы и четко сформулированы цель и задача исследования, а также приведены положения, выносимые на защиту. Обзор литературы написан четко, содержит хорошо проанализированную информацию по теме диссертации и позволяет оценить необходимость решения поставленных автором задач.

В разделе «Материалы и методы» дается подробное описание экспериментальных моделей и использованных методов анализа. Их выбор адекватен поставленным в работе задачам и обоснован автором в этой главе. Диссертация выполнена на значительном материале и в работе использованы адекватные статистические приемы.

В главе «результаты исследования» автор последовательно отвечает на поставленные в работе вопросы, причем из текста становится очевидным выбор использованных в работе методических подходов и методов анализа. В конце каждого раздела главы приводится обоснование необходимости проведения следующей серии экспериментов, что придает работе логичность и облегчает понимание полученных результатов. Данные хорошо проиллюстрированы, проведен адекватный статистический анализ. Все полученные результаты являются новыми и вносят значительный вклад в решение проблемы.

Результаты исследования подробно анализируются в главе обсуждение с привлечением данных мировой научной литературы, в том числе и последних лет. Однако по сравнению с другими разделами эта глава написана менее логично. Однако заключение содержит описание всех основных выявленных закономерностей и придает работе завершенность.

Выводы отражают полученные результаты, четко сформулированы и не вызывают сомнения.

Диссертация полностью соответствует специальности физиология 03.03.01.

Автореферат отражает основные положения диссертации и соответствует существующим требованиям. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК.

Замечания и вопросы.

Замечаний, способных повлиять на высокую оценку работы, нет.

В одном из разделов дается описание различий в распределении белков AP1 комплекса cFos и cJun в различных отделах мозга, и автор связывает это с изменениями в активности ERK/MAPK каскада. Вовлечен ли неканонический механизм глюкокортикоидной регуляции в индукцию тирозингидроксилазы в дофаминергических нейронах мозга?

Заключение

В связи с вышеизложенным диссертация Сухаревой Екатерины Викторовны на соискание ученой степени кандидата наук является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, имеет существенное значение для фундаментальной и прикладной физиологии и соответствует п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842г. «О порядке присуждения ученых степеней», а сама Екатерина Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по отрасли знаний -03.03.01 – «Физиология».

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Лаборатории сравнительной биохимии клеточных функций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (Зав.лаб. М.В.Глазова) Протокол № 3 от 20.10.2016

Гл.н.с. лаборатории сравнительной
биохимии клеточных функций
ИЭФБ РАН,
д.б.н.

Черниговская Е.В.



Е.В. Черниговская
 Е.В. Черниговская
 М.В. Глазова
 20.10.2016