

## О Т З Ы В

официального оппонента

на диссертацию Сухаревой Екатерины Викторовны  
«Особенности регуляции глюкокортикоидами ключевого фермента синтеза катехоламинов - тирозингидроксилазы мозга крыс в раннем онтогенезе» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Примерно четверть населения страдает в тот или иной период жизни тем или иным ментальным расстройством, а сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности во всем мире. Многие психиатрические, сердечно-сосудистые, а также эндокринные и метаболические расстройства имеют начало в раннем онтогенезе, когда в патогенез заболевания существенный вклад вносят генетика и факторы окружающей среды. Однако молекулярно-клеточные механизмы этого явления до сих пор остаются невыясненными, поэтому исследования такого плана представляются актуальными, что в перспективе позволит выявить новые терапевтические мишени и улучшить существующую диагностику.

Учитывая вышесказанное, диссертационная работа Сухаревой Екатерины Викторовны, посвященная роли белков jun/fos в регуляции тирозингидроксилазы глюкокортикоидами в раннем онтогенезе, является актуальной и своевременной. Основной целью работы было выяснение участия белков jun/fos в связывании с AP-1 транскрипционным комплексом и гормональной индукции транскрипции гена тирозингидроксилазы (ТГ), ключевого фермента катехоламинов, в процессе нейроразвития, что в конечном итоге определяет нейрохимию головного мозга в последующие этапы жизни. Данное исследование впервые представило доказательства существования неканонического механизма глюкокортикоидной регуляции активности ТГ.

Следует отметить хорошо продуманный дизайн экспериментов и чёткость поставленных задач для достижения поставленной задачи исследования. В работе использовали крыс линии Вистар – 20ти дневные эмбрионы, 3-, 8-дневных крысят, 25- и 70-дневных самцов крыс. В качестве воздействия на глюкокортикоидную систему, вводили дексаметазон или гидрокортизон. Применяя современные молекулярно-генетические подходы, диссертант, Сухарева Екатерина Викторовна получила экспериментальный материал, отмеченный неоспоримой новизной.

В частности, в данной работе выявлено, что активация неканонического механизма действия гормона осуществляется за счёт преобладания соотношения белков Jun по отношению к белкам Fos, что приводит к повышенному взаимодействию JunB с AP-1 элементом промотора гена ТГ. Примечательно, что такое соотношение меняется с возрастом (временной фактор) и также выявлена региональная зависимость экспрессии ТГ и белка c-fos при введении дексаметазона (пространственный фактор) – сопоставлялась экспрессия в стволе мозга, гиппокампе и коре головного мозга:

Во-первых, была показана динамика гормональной индукции экспрессии ТГ – экспрессия Jun превышала экспрессию c-Fos в стволе головного мозга у 3-х дневных крысят в 5-20 раз по сравнению с 8-дневными крысятами, у которых уже не наблюдалось гормональной индукции ТГ.

Во-вторых, в ответ на дексаметазон (синтетический глюкокортикоид) показана регион-зависимая экспрессии c-fos – так, в коре и гиппокампе наблюдалась повышенная экспрессия c-fos, а в стволе головного мозга – пониженная.

В-третьих, диссертант впервые продемонстрировала взаимодействие JunB и c-Fos с дистальным AP-1 элементом промотором гена ТГ *in vivo*, применив метод иммунопреципитации хроматина (ChIP).

Впервые выявлен критичный «глюкокортикоид-чувствительный» период нейроразвития (3 день постнатального развития), когда введение дексаметазона прогрессивно повышает экспрессию гена ТГ в течение 24 часов, а также вызывает долговременное изменение экспрессии ТГ – как в ювенильном (25й день), так и во взрослом (70й день) возрасте.

Диссертант продемонстрировала хорошее знание литературы по данной научной проблеме, что отражено в полной мере при обсуждении полученных результатов. Выводы научно-исследовательской работы Екатерины Викторовны лаконично передают суть полученных результатов.

Выявление диссертантом молекулярных регуляторов экспрессии ТГ в процессе нейроразвития, а также в регион зависимой манере, вносят существенный вклад в понимание молекулярных механизмов «онтогенетического программирования» - регуляции глюкокортикоидами экспрессии ТГ, основного фермента синтеза катехоламинов. Подтверждено важное участие белков Jun и Fos

транскрипционного комплекса AP-1 в гормональной индукции гена ТГ, что подтверждает неканонический механизм глюкокортикоидной регуляции ТГ.

В данной работе отсутствует видение потенциального применения полученных результатов в клинике. Возможно, предложить для ранней диагностики разработку чувствительного показателя (биомаркера), выявленный в данной работе показатель соотношения jun/fos в качестве для мониторинга нормального и патологического нейроразвития. Кроме того, полученные диссертантом данные о взаимодействии JunB с AP-1 элементом гена ТГ предполагают дальнейший поиск создания модулятора нейроразвития – например, синтез нейропептида, размыкающего взаимодействия JunB с AP-1. Можно предположить, что такой пептид будет способен корректировать траекторию нейроразвития и предотвращать ассоциированные с абнормальной экспрессией ТГ патологии. Соответственно, данное направление дальнейших исследований найдёт применение в клинической фармакологии.

По актуальности темы, полноте представленных и решенных задач, совокупности новых научных результатов диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, изложенным в п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г., № 842, а ее автор Сухарева Екатерина Викторовна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Заведующая лабораторией  
экспериментальных моделей  
патологии когнитивной деятельности НИИФФМ,  
кандидат биологических наук

Т.В. Липина

28 октября 2016 год

г. Новосибирск, ул. Тимакова 4,  
Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение  
«Научно-исследовательский  
Институт физиологии и фундаментальной медицины»  
Тел: 383-373-01-82 x 1110  
8-923-736-87-83  
Факс: 383-335-97-54  
E-mail: [lipina@physiol.ru](mailto:lipina@physiol.ru)



*Handwritten signature in blue ink.*

*Handwritten signature in blue ink.*