

24 мая 2017 года на заседании Диссертационного совета Д.002.044.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук состоялась защита диссертации Ивановой Ольги Ярославовны «Участие канонического сигнального пути Wnt в регуляции пластичности гиппокампа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.03.01 – «Физиология».

На заседании присутствовало 18 членов совета, из них 14 докторов наук по специальности « физиология» - 03.03.01 - биологические науки:

Балабан П.М., 03.03.01, биол. науки
Базян А.С., 03.03.01, биол. науки
Богданов А.В., 03.03.01 биол. науки
Болдырева Г.Н., 03.03.01 биол. науки
Григорьян Г.А., 03.03.01, мед.науки
Гуляева Н.В., 03.03.01, биол. науки
Дорохов В.Б., 03.03.01, биол. науки
Захаров И.С., 03.03.01, биол. науки
Иваницкий А.М., 03.03.01, мед.науки

Иерусалимский В.Н., 03.03.01 биол. науки
Косицын Н.С., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки
Лебедева Н.Н., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки
Мержанова Г.Х., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки
Михайлова Е.С., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки
Раевский В.В., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки
Стрелец В.Б., 03.03.01, мед. науки
Урываев Ю.В., 03.03.01, мед. науки
Фролов А.А., 03.03.01, 03.03.01 биол. науки

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.03.01 – «физиология», биологические науки, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18, против – 0, недействительных бюллетеней - 0.

Диссертационный совет принял решение присудить Ивановой Ольге Ярославовне ученую степень кандидата биологических наук.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.044.01
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской
академии наук
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 24.05. 2017 г № 1

О присуждении Ивановой Ольге Ярославовне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Ивановой О. Я. «Участие канонического сигнального пути wnt в регуляции пластичности гиппокампа» по специальности: 03.03.01 – «Физиология» (биологические науки) принята к защите 22 февраля 2017 года, протокол № 1 диссертационным советом Д 002.044.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, 117485, г. Москва, ул. Бутлерова д. 5а, создан Приказом № 1216-в от 29 декабря 2000 г. ВАК Министерства образования РФ, продлены полномочия Приказом № 2059-2001 от 5 октября 2009 г. Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки (Рособрнадзор) в количестве 24 человек на период действия номенклатуры специальностей научных работников, утвержденной приказом Минобрнауки России от 25.02.2009 г. № 59).

Соискатель Иванова Ольга Ярославовна, 18.01.1989 года рождения, гражданка Российской Федерации, в 2011 году окончила Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, получив диплом по специальности «Биохимическая физика». В настоящее время работает в

лаборатории нейрофизиологии обучения Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории нейрофизиологии обучения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН..

Научный руководитель: Маркевич Владимир Александрович, гражданин РФ, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией нейрофизиологии обучения Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва.

Официальные оппоненты:

- Солнцева Елена Ивановна, гражданка РФ, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр неврологии» ФАНО, г. Москва.

- Кичигина Валентина Федоровна, гражданка РФ, доктор биологических наук, заведующая лабораторией системной организации нейронов ФГБУН Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино.

Дали положительные отзывы о диссертации. Оба отзыва содержат ряд непринципиальных замечаний.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, в своем положительном заключении, подписанном ведущим научным сотрудником кафедры высшей нервной деятельности биофака МГУ, кандидатом биологических наук В.И. Майоровым и заведующим кафедрой высшей нервной деятельности биофака МГУ, доктором биологических наук, профессором А.В. Латановым и

утвержденном проректором – начальником управления научной политики и организации научных исследований МГУ А.А.Федяниным, указала, что в данной работе автором продемонстрировано двунаправленное влияние хронического подавления и усиления сигнального пути Wnt на величину потенциации фВПСП в процессе развития длительной потенциации синаптической передачи, а также на уровень β -катенина в гиппокампе. Ослабление длительной потенциации под влиянием хронического подавления сигнального пути Wnt коррелировало с угнетением парной фасилитации фВПСП. Получены также данные о влиянии лентивирусной трансдукции на постсинаптическую клеточную экспрессию ряда ключевых компонентов каскада Wnt.

Полученные результаты и выводы расширяют современные представления о молекулярных механизмах функционирования сигнального пути Wnt в нейронах гиппокампа. С учетом того, что сигнальный путь Wnt участвует и в процессах развития, и в регуляции нейрогенеза (в частности, в гиппокампе), а его нарушения отмечены при целом ряде заболеваний мозга человека (в частности, при болезни Альцгеймера), полученные результаты имеют и практическую значимость. Они могут указывать на молекулярные мишени для разработки методов коррекции патологических процессов в ЦНС. Используемый автором метод локальной лентивирусной трансдукции может стать инструментом для целенаправленного изменения экспрессии белков каскада Wnt.

В качестве замечаний можно отметить, что в обзоре литературы недостаточно освещен вопрос о влиянии изменений в каскаде Wnt на функциональную синаптическую пластичность. Недостаточно внимания уделено феномену «депривационной потенциации». В работе также не учитывались изменения плотности синаптических связей и, соответственно,

величины ВПСИ под влиянием изменения экспрессии элементов сигнального пути Wnt.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, из них по теме диссертации опубликовано 7 научных работ общим объемом 1,3 печатных листа, в том числе 1 статью в научном журнале, который включен в перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертаций, 1 статью в зарубежном журнале, 5 работ опубликовано в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов. Работы написаны в соавторстве с научным руководителем и сотрудниками лаборатории, где выполнялась работа.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Гурская О. Я., Добрякова Ю. В., Маркевич В. А. Роль сигнального пути Wnt в регуляции работы мозга. Журнал высшей нервной деятельности. 2015, том 65, № 4, с. 387–399.
2. Ivanova O.Ya., Dobryakova Y.V., Salozhin S.V., Aniol V.A., Onufriev M.V., Gulyaeva N.V., Markevich V.A. Lentiviral modulation of Wnt/ β -catenin signaling affects in vivo LTP. Cellular and molecular neurobiology. 2017, DOI: 10.1007/s10571-016-0455-z

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

- от заведующего лабораторией функциональной синаптологии ФГБНУ ИЦН, члена-корреспондента РАН В. Г. Скребицкого. Отзыв положительный, замечаний нет.
- от заведующего лабораторией молекулярных механизмов межнейронных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения

науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, доктора биологических наук А.В. Зайцева. Отзыв положительный, замечаний нет.

- от профессора кафедры нормальной физиологии Первого МГМУ им И.М. Сеченова, доктора медицинских наук Е.А. Юматова. Отзыв положительный, замечаний нет.

- от старшего научного сотрудника лаборатории клеточной физиологии федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации – института медико-биологических проблем РАН, кандидата биологических наук О.В. Григорьевой. Отзыв положительный, замечаний нет.

Во всех отзывах отмечается, что проделана большая работа, проведен тщательный анализ полученных результатов. Получены новые данные, автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются компетентными в данной отрасли науки учеными, имеют публикации в сфере исследования, соответствующей теме диссертации, и дали на это свое согласие.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что она широко известна своими достижениями в данной отрасли науки и способна определить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований показано, что хроническое подавление канонического сигнального пути Wnt приводит к угнетению синаптической пластичности, выраженному в нарушении индукции и поддержания ранней

фазы долговременной потенциации *in vivo*. Хроническая оверэкспрессия лиганда канонического каскада Wnt3 обеспечивает усиление пластичности синаптических связей, выраженное в облегчении индукции долговременной потенциации *in vivo*. Установлено, что регуляция синаптической пластичности сигнальным каскадом Wnt реализуется преимущественно через пресинаптические механизмы, а оверэкспрессия белка Wnt3 приводит к постсинаптическим перестройкам.

Теоретическая значимость работы подтверждается тем, что полученные данные позволяют оценить роль каскада Wnt в реализации процессов синаптической пластичности.

Значение полученных соискателем результатов для практики заключается в том, что сигнальный путь Wnt и его компоненты являются перспективной мишенью для разработки методов лечения различных неврологических и нейродегенеративных патологий, а использованный в данной работе метод лентивирусной трансдукции может быть в дальнейшем применен в клинической практике для коррекции нарушений путем локального хронического изменения экспрессии белков каскада непосредственно в целевой структуре ЦНС.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что диссертация содержит обширный экспериментальный материал. Работа выполнена на крысах линии Вистар (180 особей). Животные были разделены на четыре группы. Первая группа получала инъекцию лентивирусной конструкции, экспрессирующей белок Wnt1, не способный запускать каскад Wnt; вторая группа получала инъекцию лентивирусной конструкции, оверэкспрессирующей Wnt3. Контрольные группы получали инъекцию пустой лентивирусной конструкции либо физиологического раствора. Суспензию вводили в область CA1 правого гиппокампа крысы. Для исследования влияния лентивирусных

конструкций на долговременную потенциацию *in vivo* животных наркотизировали и унилатерально вживляли биполярные электроды в коллатерали Шаффера (стимуляция) и поле CA1 гиппокампа (регистрация). Эффективность синаптической передачи оценивали, регистрируя фокальные возбуждающие постсинаптические потенциалы в поле CA1 при парной стимуляции прямоугольными импульсами. Для индукции долговременной потенциации использовали высокочастотную тетанизацию. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft, USA). Для оценки достоверности изменений использовали двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями. Для внутригруппового сравнения использовали апостериорный метод наименьших значимых различий Фишера. Для биохимического исследования у животных изымали дорсальную часть правого гиппокампа через 14 дней после инъекции. Образцы гомогенизировали и получали цитоплазматическую и ядерную фракции. Белки разделяли с помощью электрофореза и проводили вестерн-блоттинг с помощью ряда антител (анти-Wnt1, анти-Wnt3, анти-GSK-3 β , анти-фосфо-GSK-3 β (Ser 9), анти- β -катенин, анти-циклин D1, анти-c-Myc, анти-PSD-95). Уровни белков β -катенина, фосфо- β -катенина, GSK-3 β и фосфо-GSK-3 β в ядерной фракции измеряли с помощью иммуноферментного анализа. Киназную активность GSK-3 β определяли в иммунопреципитатах, полученных из гомогенатов гиппокампа. Для проверки распространения лентивирусных конструкций в гиппокампе проводили морфологический контроль через 14 дней после инъекции вирусов: иммуногистохимический анализ на фронтальных срезах. Локализацию и размер области заражения оценивали визуально по свечению зеленого флуоресцентного белка.

Личный вклад соискателя состоит в получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертация охватывает вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием продуманного плана исследований, адекватностью использованных методов, концептуальностью работы и взаимосвязанностью выводов.

На заседании 24.05.2017 г. Диссертационный совет принял решение присудить Ивановой Ольге Ярославовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.03.01 – «физиология», биологические науки, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета

Член-корреспондент РАН

Балабан Павел Милославович

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор биологических наук

Иерусалимский Виктор Николаевич

24 мая 2017 г.