

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Некрасова Евгения Дмитриевича «Моделирование болезни Гентингтона с помощью индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Диссертационная работа Е.Д. Некрасова посвящена исследованию болезни Гентингтона с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека. Нейродегенеративные заболевания представляют большую группу различных нарушений, которые связаны с постепенной деградацией и гибелью определенных типов нейронов. Болезнь Гентингтона – неизлечимое наследственное нейродегенеративное заболевание, молекулярные механизмы которого в значительной мере не ясны. Распространенность болезни Гентингтона колеблется от 0.1-0.38 (Япония, страны Африки) до 3-7 (страны Западной и Восточной Европы, США, Канада) на 100000 человек населения, в некоторых популяциях доходя до 15-17 и выше на 100000 человек населения (остров Тасмания, Венесуэла). Выяснение причин нейродегенерации и поиск новых лекарств невозможны без создания моделей заболеваний. Технология получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток открыла целое новое направление в моделировании заболеваний человека. Диссертационная работа Некрасова Евгения Дмитриевича основана на применении этой технологии и представляется современной и, несомненно, **актуальной**.

К элементам **научной новизны** в настоящей работе относятся результаты о повышенной частоте ядерных инвагинаций, повышенном содержании аутофагосом и повышенном депо-управляемом входе кальция в человеческих пациент-специфичных нейронах с мутацией в гене хантингина. Также в работе впервые продемонстрирована нейродегенерация патологических пациент-специфичных нейронов в модели старения, вызванного снижением активности протеасомного аппарата деградации белков и способность соединения EVP4593 предотвращать гибель нейронов в разработанной модели старения, и нормализовать депо-управляемый вход кальция и содержание лизосом.

Одним из очевидных аспектов **практической значимости** данной работы являются результаты о действии EVP4593 на проявления болезни Гентингтона в представленной модельной системе.

Диссертационная работа Е.Д. Некрасова изложена на 93 страницах компьютерного текста, включает 4 таблицы и 23 рисунка. Список цитируемой литературы содержит 182 наименования. Диссертация построена по обычному плану и содержит: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список сокращений, список литературы.

Во **«Введении»** диссертации Е.Д. Некрасов четко формулирует цели из задачи исследования, положения, выносимые на защиту, вполне убедительно обосновывает актуальность темы, ее практическая значимость и новизну.

«Обзор литературы» является хорошим введением к экспериментальной части. Он написан увлекательно и даёт хорошее представление о развитии подобных исследований в области клеточного репрограммирования для изучения и лечения болезней нервной системы.

Глава **«Материалы и методы»** является довольно обширной и содержит в себе информацию о 39 различных методиках, охватывающих широкий диапазон молекулярно-генетических подходов. Очевидно, что для решения поставленных задач автор применяет самые современные методы исследования.

Глава **«Результаты и обсуждение»** написана убедительно, полученные результаты структурированы и снабжены иллюстрациями. Результаты обсуждены в контексте современного состояния проблематики.

В **«Заключении»** изложены полученные автором результаты и подчеркнута их значимость, описаны перспективы дальнейшей разработки темы.

Выводы достоверны и обоснованы.

К диссертационной работе есть следующие **замечания**:

1. Количественный анализ деформаций ядерной оболочки внутрь клеточного ядра (инвагинаций) в нейронах, полученных из ИПСК пациентов с болезнью Гентингтона и контрольных проводился с использованием коэффициента, называемого в работе округлостью. Этот коэффициент однако сильно зависит от вытянутости ядра. В настоящей работе увеличение частоты инвагинаций убедительно показано несколькими методами и использование этого коэффициента оправдано. Однако в последующей работе, особенно для скрининга препаратов, рекомендуется использование коэффициента $Solidity = \frac{Area}{Convex\ area}$.
2. В будущем, электрофизиологическая характеристика сгенерированных нейронов должна быть дополнена измерениями потенциалов действия и спонтанных постсинаптических токов, которые более полно позволяют судить о степени зрелости нейронов.
3. Во случаях когда статистические сравнения проводятся между более чем 2 группами клеток (например Рис. 16), для оценки значимости рекомендуется использовать дисперсионный анализ (ANOVA). Для использования одностороннего Т-теста должно быть априорное обоснование.

Приведённые замечания не влияют на чрезвычайно положительную оценку работы.

Содержание работы отражено в 14 печатных работах, 6 из которых статьи в журналах, соответствующих Перечню ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертации, 7 тезисов научных докладов на международных конференциях и одна глава монографии. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, написан очень информативно и чётко.

Представленная диссертационная работа Е.Д. Некрасова «Моделирование болезни Гентингтона с помощью индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека» является законченным научным исследованием, имеет существенное научное и практическое значение, по своей структуре и содержанию в полной мере отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» №842, утверждённого Правительством Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., а ее автор Некрасов Евгений Дмитриевич заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Руководитель отдела молекулярной нейропластичности
Немецкого центра нейродегенеративных заболеваний
К.б.н., профессор по специальности
03.00.13 – физиология человека и животных



4 декабря 2015

Дитятев Александр Эдуардович

Prof. Alexander Dityatev
Molecular Neuroplasticity
Deutsches Zentrum für Neurodegenerative
Erkrankungen e.V. (DZNE)
Leipziger Straße 44 / Haus 64 / R 429a
39120 Magdeburg
Germany

Подпись
удостоверяю

Ученый секретарь ИОГен РАН
доктор биологических наук



Огаркова О.А.