

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Климович Полины Сергеевны

«Механизмы участия урокиназной системы в процессах роста и регенерации нервов», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

**Актуальность исследования.** Работа Климович П.С. «Механизмы участия урокиназной системы в процессах роста и регенерации нервов» посвящена актуальной проблеме - изучению молекулярных и клеточных механизмов регенерации периферических нервов, в частности участию урокиназной системы в этих процессах. Регенерация поврежденных периферических нервов является многоступенчатым процессом со сложной молекулярно-биологической и клеточной системой регуляции. В настоящее время известно, что урокиназный рецептор способен модулировать функции множества белков, участвующих в регенерации. Автор ставит перед собой цель - изучить механизмы регенерации периферических нервов с участием урокиназной системы и  $\alpha 5\beta 1$  интегринов, что представляет большой интерес как с точки зрения получения фундаментальных знаний, так и для решения практических задач регенеративной медицины, так как существующие в настоящее время терапевтические подходы малоэффективны даже при легких повреждениях нервов.

Особую актуальность в этом исследовании имеет не только изучение взаимодействия урокиназной системы с  $\alpha 5\beta 1$  интегринными в механизмах, опосредующих регенерацию периферических нервов, но и определение роли рецептора урокиназы в регуляции направленного роста аксонов и установление молекулярных партнеров урокиназного рецептора, опосредующих направленный рост и регенерацию аксонов.

Таким образом, актуальность и новизна диссертационной работы Климович П.С. не вызывает сомнений.

### **Научная новизна.**

Все полученные автором результаты являются новыми и расширяют представления о механизмах регенерации периферических нервов. Обнаружен новый механизм участия uPAR в регенерации нервов и в нейритогенезе за счет регуляции экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  интегринов. Доказано, что для стимуляции нейритогенеза необходимо латеральное взаимодействие uPAR с  $\alpha 5\beta 1$  интегринными.

### **Научная и практическая значимость**

Полученные в работе результаты расширяют понимание фундаментальных молекулярно-клеточных механизмов роста и регенерации нервов. Исследуемые составляющие урокиназной системы могут стать перспективной мишенью для разработки лекарственных препаратов для стимуляции восстановления поврежденных периферических нервов.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.**

Достоверность результатов подтверждается статистическим анализом и не вызывает сомнений. Сделанные выводы являются аргументированными, логичными и соответствуют полученным результатам.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 131 странице и включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Работа содержит 36 рисунков и 4 таблицы. В диссертации процитировано 168 работ.

В разделе «Введение» автор обосновывает актуальность и новизну исследования, обозначает цели и задачи работы. В этой части диссертации представлены научная и практическая значимость, приводятся положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы построен логично и содержит основную информацию, необходимую для понимания и интерпретации данных, представленных в диссертации. Помимо описания строения периферического нерва, автор освещает общие механизмы регенерации периферических нервов и дает подробную функциональную характеристику интегринов.

В разделе «Материалы и методы» приведено большое количество современных методов клеточной и молекулярной биологии, использованных автором. Большинство методов описано довольно подробно. Дана модель повреждения периферического нерва и способы оценки эффективности регенерации периферического нерва после травмы.

В ходе исследования проделан большой объем экспериментальной работы, и раздел «Результаты» состоит из десяти основных частей.

Используя эксплантаты спинальных ганглиев мыши, автор показал, что ингибирование uPA и uPAR снижает рост аксонов из эксплантатов. Нокаут гена uPA приводит к увеличению площади, занимаемой отрастающими от эксплантата нейритами, а нокаут гена uPAR вызывает задержку восстановления периферических нервов у мыши после повреждения, что сопровождается уменьшением количества регенерирующих аксонов в нерве и снижением в нем пролиферации Шванновских клеток. Отсутствие uPAR вызывало задержку в функциональном восстановлении нерва, на что указывало удлинение латентного периода (время от момента стимуляции нерва до момента регистрации вызванного потенциала действия) на 7 сутки и уменьшение амплитуды суммарных потенциалов действия нерва на 14 сутки после травмы. Показано, что экспрессия  $\alpha 5\beta 1$ -интегринов коррелирует с экспрессией uPAR в интактных нервах, а при регенерации нерва после повреждения в нем увеличивается экспрессия и солокализация uPAR и  $\alpha 5\beta 1$ -интегринов.

Получение клеточной линии N2A с гиперэкспрессией и с подавленной экспрессией гена uPAR позволило автору показать, что uPAR индуцирует сборку комплекса  $\alpha 5\beta 1$ -интегринов на плазматической мембране клеток

N2A, и что uPAR латерально взаимодействует с  $\alpha 5\beta 1$ -интегринами в этих клетках.

Основные результаты диссертационной работы Климович П.С. опубликованы в научной печати (6 статей) и доложены на 7 российских и международных конференциях. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации.

### **Замечания и вопросы**

1. В оглавлении нет раздела «список литературы».
2. В разделе «Материалы и методы исследования», стр. 49, не понятно, что такое 1X в обозначении антибиотика.
3. Какова была плотность клеток на квадратный сантиметр при посадке, и каков был процент живых клеток в суспензии, полученной при диссоциации спинальных ганглиев мышей?
4. Существуют ли методы оценки степени функционального нарушения конечности животного при травматическом повреждении общего малоберцового нерва?

Указанные замечания имеют редакционный характер и не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Климович Полины Сергеевны заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Исаев Николай Константинович

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.25 - Гистология, цитология, клеточная биология

Адрес места работы:

119234, Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 12.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет

Тел.: 8-(495) 939-17-94; e-mail: nisaev61@mail.ru

Подпись сотрудника биологического факультета

МГУ им.М.В.Ломоносова Н.К. Исаева удостоверяю:

ученый секретарь Ученого совета

биологического факультета

МГУ имени М.В. Ломоносова

Петрова Е.В.