

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук**  
**Тимошиной Юлии Анатольевны**  
**на тему: «РОЛЬ НА<sub>+</sub>К-АТФАЗЫ В ПОВЕДЕНЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ**  
**У МЫШЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ УАБАИНОМ, МАРГАНЦЕМ И**  
**МФТП»**  
**по специальности 1.5.24. Нейробиология**

Недостаток фундаментальных знаний о механизмах развития нейродегенеративных заболеваний затрудняет поиск эффективных методов их терапии и определяет высокую актуальность научных исследований в данном направлении. Работа Юлии Анатольевны Тимошиной посвящена изучению роли Na,K АТФазы в развитии патологических изменений нервной системы, характерных для нейродегенеративных заболеваний, а также при воздействии нейротоксикантов. Связь между нейродегенерацией и Na,K АТФазой убедительна показана в целом ряде исследований. Так известно, что бетаамилоидный пептид и его агрегаты могут взаимодействовать с данным комплексом. Также существует связь, в том числе генетическая, между Na,K АТФазой и паркинсонизмом. Приведенные в диссертации данные безусловно представляют научную новизну и важны как с точки зрения развития представлений о роли Na,K АТФазы и ее модуляции в функционировании нейронов, так и для обоснования новых молекулярных мишеней для терапевтического воздействия.

Работа изложена на 172 страницах, имеет классическую структуру и состоит из разделов: «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключения», «Выводы» и «Список литературы». В первой части обзора литературы обстоятельно рассмотрены современные данные о структуре и функциях Na,K АТФазы. В последующих разделах описаны патологические состояния и их связь с Na,K АТФазой,

прежде всего для болезни Паркинсона. Обзор написан хорошим научным языком и подготавливает читателя к восприятию основной части исследования. Автором при написании диссертации обработано большое количество источников литературы (всего 281), что подчеркивает полноту и объективность представленной информации. Единственным упущением является полное отсутствие в литобзоре схем и рисунков, которые могли бы улучшить восприятие информации.

В главе «Материалы и методы» подробно изложены использованные в работе методики, согласно общепринятым стандартам для научной литературы. В работе применялся широкий набор методов, позволивший провести всестороннее исследование влияния различных факторов на функции Na,K АТФазы в модельных системах. Сочетание экспериментов на клеточных культурах, животных моделях и использование биохимических, поведенческих, гистологических и других методов анализа является сильной стороной работы. Выбранные подходы адекватны цели исследования и позволили решить все поставленные задачи. Статистическая обработка данных проведена грамотно, что подчеркивает обоснованность сделанных выводов.

В результатах автор делает логичный переход от экспериментов на клеточной линии нейронального типа (SH-SY5Y), где он показывает, что кардиотонический стероид уабаин влияет на выживаемость клеток, к животной модели, в которой уабаина приводил к формированию гиперлокомоторного фенотипа. На клетках нейротоксический эффект уабаина был объяснен через активацию протеинкиназы С и МАР-киназы, но не дофаминовых D 2 рецепторов. При этом клетки синтезировали меньше дофамина под действием уабаина. Далее, на основе данных, полученных в животной модели делается вывод об активации дофаминовой системы через влияние на внутриклеточные сигнальные каскады, например, Akt. В связи с чем возникает вопрос, насколько оправдано можно говорить об активации дофаминов трансмиссии только на основании активации нижележащих

сигнальных путей, которые потенциально могут быть активированы сигналами от других типов рецепторов или другими внутриклеточными молекулами?

Интересными представляются данные о том, что активность Na,K АТФазы разнонаправленно изменялась в разных отделах мозга, кратковременно повышалась в стриатуме и снижалась в среднем мозге на более длительном временном промежутке. Автор объяснил это разными локальными концентрациями уабаина. Может ли наблюдаемый фенотип объясняться влиянием уабаина на другие медиаторные системы и/или другие зоны мозга? Особенно учитывая тот факт, что у мышей наблюдалась не только моторные изменения, но также, признаки изменения тревожности (увеличение времени в центре в «открытом поле»). Проводились ли какие-то дополнительные тесты на психоэмоциональное состояние животных? Проводились ли эксперименты по локальной инъекции уабаина в паренхиму мозга в интересующие зоны, с последующим анализом тех же параметров?

Далее следует раздел посвященный мышевой модели манганизма с целью определить вовлечена ли Na,K АТФаза в механизмы токсического повреждения мозга при отравлении марганцем. Хроническое потребление хлорида марганца приводило к развитию гиподинамического фенотипа у мышей, а также к нарушению имплицитного обучения. Это хорошо согласуется с накоплением марганца в мозжечке животных. И хотя активность Na,K АТФазы и снижалась в первые недели эксперимента, по-видимому, формирование наблюдаемого фенотипа не связано с данным ферментом.

Заключительная часть результатов посвящена анализу МФТП-индуцированной доклинической стадии паркинсонизма на мышах. В полученной модели не регистрировались явные моторные нарушения, а анализ уровня дофамина и TH-позитивных нейронов черной субстанции подтвердили, что при выбранном режиме введения МФТП формируется досимптомный уровень повреждения нигростриарной системы. При этом изменений в активности Na,K АТФазы в среднем мозге и мозжечке не

выявлялось. Автор делает справедливый вывод о том, что  $\text{Na},\text{K}$  АТФаза не вовлечена в повреждение нигростриарной системы, по крайней мере, на ранней стадии развития патологии. По данному разделу возникает следующий вопрос: почему активность  $\text{Na},\text{K}$  АТФазы не измерялась в стриатуме, где находятся проекции от дофаминэргических нейронов черной субстанции? Учитывая, что на уабаиновой модели такие измерения проводились, было бы интересно провести сравнение. Еще более интересным представляется проведение аналогичного исследования на МФТП-модели клинической стадии паркинсонизма с высоким уровнем гибели дофаминэргических нейронов и выраженными моторными нарушениями. Что известно о таких исследованиях?

Приведенные вопросы и замечания не умаляют значимости выполненной работы и носят уточняющий характер. Рассматриваемая диссертация представляет собой законченный научно-исследовательский труд. Полученные результаты достоверны, а выводы работы кратко суммируют важнейшие результаты и полностью соответствуют поставленным задачам. По результатам работы опубликовано 7 научных статей в российских и зарубежных журналах, индексируемых в базах данных РИНЦ, Scopus и Web of Science. Апробация материалов диссертации прошла на различных научно-практических конференциях, включая международные.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.240. Нейробиология (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. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Тимошина Юлия Анатольевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.24. Нейробиология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,  
заведующий лабораторией молекулярно-  
генетических механизмов нейродегенерации  
Института физиологически активных  
веществ Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Федерального исследовательского центра  
проблем химической физики и медицинской  
химии Российской академии наук

Кухарский Михаил Сергеевич

04.12.2025 г.

Контактные данные:

тел.: e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом  
зашита диссертация:

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, д.1,  
Институт физиологически активных веществ Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Федерального  
исследовательского центра проблем химической физики и медицинской  
химии Российской академии наук, лаборатория молекулярно-генетических  
механизмов нейродегенерации  
Тел.: 8 (496) 524-25-88; e-mail:

Подпись сотрудника

ИФАВ РАН Кухарского М.С. удостоверяю:

Директор ИФАВ РАН

А.А. Устюгов