

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ

194064 Санкт-Петербург, Тихорецкий пр, 4

Тел. (812) 297-18-29 Факс: (812) 297-35 41

РЕЦЕНЗИЯ

на выпускную квалификационную работу магистра кафедры цитологии и гистологии Биологического факультета Санкт-Петербургского Государственного Университета А.Д. Никотиной на тему «Цитопротекторное действие соединений, влияющих на агрегацию глициеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы при окислительном стрессе».

Процесс образования белковых агрегатов лежит в основе патогенеза множества нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, латеральный амиотрофический склероз и т. д. Зачастую образование белковых агрегатов является следствием увеличения в клетке активных форм кислорода, иными словами, реакцией на окислительный стресс.

Фермент глициеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) – один из ключевых ферментов цепи гликолиза. Помимо этого ГАФДГ известен как сенсор окислительного стресса в клетках. Показано, что ГАФДГ вовлечен в патогенез некоторых нейродегенеративных заболеваний. Более того, токсичность агрегатов, формирующихся при этих заболеваниях, зависит от присутствия в них ГАФДГ.

В представленной работе исследуются соединения, способные предотвращать агрегацию ГАФДГ в ответ на окислительный стресс в клетках нейробластомы человека SK-N-SH. Таким образом, актуальность работы, направленной на поиск веществ, вполне вероятно, обладающих терапевтическим потенциалом, не вызывает сомнения.

Помимо очевидной практической ценности данная работа является хорошо выстроенным и выполненным на высоком методическом уровне фундаментальным исследованием, посвященным изучению отдельных аспектов окислительного стресса и процессов агрегатообразования.

Сама работа написана по стандартной схеме и состоит из введения, постановки целей и задач, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения. Список библиографических источников содержит 80 ссылок.

Обзор литературы хорошо структурирован и содержит все необходимые сведения для понимания экспериментальной части работы. Сведения. Вместе с тем, однако,

хотелось бы отметить недостаточное, на мой взгляд, цитирование современных источников. В представленном обзоре литературы лишь одна ссылка относится к 2013 году, далее идет 2011 год и еще более ранние ссылки. Ссылки на публикации последних 3 лет, к сожалению, отсутствуют.

Глава материалы и методы написана в достаточной мере подробно для понимания и воспроизведения опытов. Не возникает сомнения, что автор в полной мере овладел всеми представленными методами. Особенно хотелось бы отметить широкий спектр представленных методов. Автор не ограничивается клеточным уровнем, но также проводит пилотную серию экспериментов на модельных животных, что еще больше усиливает положительное впечатление от работы.

Полученные результаты демонстрируют клеточную гибель нейробластомы человека при окислительном стрессе, индуцированном H_2O_2 , и динамику агрегации ГАФДГ. Далее автор проводит скрининг химических соединений из библиотеки Ботанического института РАН и отбирает соединения, способные влиять на агрегацию ГАФДГ. Помимо этого автор показывает, что некоторые из отобранных соединений защищают клетки от гибели, вызванной окислительным стрессом. Необходимо отметить, что эксперименты поставлены грамотно, все необходимые контрольные эксперименты выполнены, выводы обоснованы и полностью соответствуют заявленным задачам.

Как и в любой работе присутствуют некоторые недочеты и опечатки. Прежде всего, обращает на себя внимание некоторая неаккуратность в использовании сокращений и терминов. Так, например, в списке сокращений болезнь Альцгеймера сокращена как БА, в то время как в тексте, в основном, используется сокращение АБ. Используемое сокращение А β вообще не введено. Параллельно используются в одном параграфе, по сути, идентичные термины «Черная субстанция» и «S. nigra». Помимо этого, на мой взгляд на рисунке 10 в контрольных экспериментах использованы неверные подписи: 10, 100 и 1000 нМ DMSO. Очевидно, имеется в виду не концентрация DMSO в конечном растворе, а то, что в качестве контроля использовались объемы DMSO, эквивалентные используемым в экспериментах объемам DMSO с растворенными в нужных концентрациях соединениями.

Также хотелось бы задать автору работы несколько уточняющих вопросов:

1. Сами ли Вы получали очищенную ГАФДГ?
2. Вы выбрали временную точку для оценки уровня смертности 24 часа после индукции окислительного стресса, поскольку гибель клеток в этой точке была $58 \pm 1,6\%$ клеток. В то же время на рисунке 10 смертность контрольных клеток в той же временной точке составляет порядка 41%. Хотелось бы пояснения, с чем связано столь значительное отличие, никак не укладывающееся в ошибку, полученную в первой серии экспериментов (рис. 3).
3. Вы делаете предположение, что только часть из протестированных соединений подавляет агрегацию ГАФДГ в клетках, в отличие от экспериментов на очищенном белке, за счет невозможности проникновения через плазматическую

мембрану. Хотелось бы получить комментарии, почему соединение рх-648 практически не оказывает влияния на агрегацию ГАФДГ в клетке, но, тем не менее, обладает ярко выраженным цитопротекторным эффектом. В дополнение к этому вопросу: для соединения рх-8 показана способность предотвращать агрегацию ГАФДГ в клетках. Однако на рисунке 10 не показано, обладает ли данное соединение защитными свойствами. Если нет, то с чем Вы связываете отсутствие в данном случае корреляции между способностью снижать агрегацию ГАФДГ и устойчивостью клеток при окислительном стрессе.

Приведенные замечания не снижают несомненной высокой ценности данной работы, результаты которой не только вносят вклад в развитие фундаментальной науки, но и позволяют надеяться на разработку в дальнейшем терапевтических подходов для лечения нейродегенеративных заболеваний. Все вышесказанное позволяет мне оценить рецензируемую работу Алины Дмитриевны Никотиной на «Отлично».

научный сотрудник

Лаборатории Ионных каналов клеточных мембран

Института цитологии РАН, к.б.н.



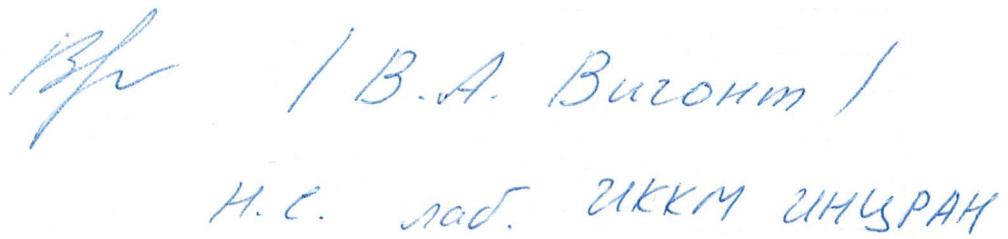
В. А. Вигонт

**ТАБЛИЦА
КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ ВКР**

студента.....Никотиной Алины Дмитриевной....(ФИО)
кафедры...Цитологии и гистологии Биологического факультета СПбГУ...

Критерий	Оценка
1. Соответствие названия работы ее содержанию	5
2. Ясность формулировок при определении цели и постановке задач работы	5
3. Качество обзора литературы (полнота охвата проблемы, уровень анализа литературных данных)	4
4. Представление в работе использованных методов исследования (адекватность методов поставленным задачам, полнота их описания)	5
5. Адекватность и качество иллюстративного материала	5
6. Обсуждение полученных данных (полнота обсуждения, его соответствие полученным результатам)	5
7. Выводы (соответствие выводов представленным результатам и поставленным задачам, четкость формулировок)	5
8. Оформление работы (аккуратность, грамотность).	4
УСРЕДНЕННАЯ ОЦЕНКА	5

Подпись рецензента



____ / В.А. Вигонин /
Н.С. лаб. ИККМ ИНЦРАН