

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента  
о диссертационной работе

**Жариковой Евы Игоревны**

на тему

### **«РЕГЕНЕРАТОРНО-АССОЦИИРОВАННЫЕ ФАКТОРЫ ПРИ ПЕРСИСТЕНТНОМ И РЕПАРАТИВНОМ НЕЙРОГЕНЕЗЕ В КОНЕЧНОМ МОЗГЕ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ»,**

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
1.5.22 – клеточная биология

#### **Актуальность работы.**

Нейрогенез у взрослых животных выявлен практически у всех позвоночных и представляет собой основной источник пластичности мозга. В отличие от млекопитающих, у костистых рыб нейроны, рожденные взрослыми особями, генерируются по всему их мозгу, что позволяет использовать модели рыб для изучения биологического значения конститутивного нейрогенеза у взрослых животных. Также у рыб показана повышенная способность к репаративному нейрогенезу, который в значительной степени зависит от активации покоящихся нейрональных стволовых клеток для повторного включения в клеточный цикл и, таким образом, создает базу для исследований роли нейрогенеза в процессах восстановления ЦНС после травмы. Таким образом, анализ раннего постнатального развития и возрастных изменений в организации конститутивного и посттравматического процессов, а также участие различных регенераторно-ассоциированных факторов является актуальной задачей, решение которой позволит восполнить пробелы в современных представлениях о развитии конечного мозга молоди лососевых рыб с учетом данных о фетализации.

#### **Научная новизна.**

Получены новые данные о пространственных и морфофункциональных соотношения популяций клеток, экспрессирующих различные регенераторно- ассоциированные факторы в норме и при остром травматическом повреждении, а также охарактеризованы

различные типы нейрональных и ненеурональных популяций на ранних сроках постнатального онтогенеза и в острый посттравматический период.

Впервые дана морфологическая характеристика нейробластов и нейронспецифичной популяции у молоди лососевых рыб. В отличие от других видов, выявлена высокая продукция даблкортин- экспрессирующих клеток в паллиуме лососевых рыб.

Впервые выявлена ненеурональные популяции клеток, расположенные на территории пролиферативных зон и продуцирующие виментин, GFAP и ГС, что позволило охарактеризовать эти популяции как ВНСКП. Впервые проанализировано распределение H2S-продуцирующих клеток в пролиферативных зонах паллиуме и субпаллиуме лососевых рыб у интактных животных. В результате острого травматического повреждения популяция данных H2S-позитивных клеток возрастает вместе с числом пролиферирующих клеток после травмы, что сопровождается снижением экспрессии Pax2.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа **Жариковой Евы Игоревны** написана по традиционному плану и содержит все необходимые разделы – введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, список цитированной литературы. Диссертация изложена на 210-ти страницах, иллюстрирована 30 рисунками и 16 таблицами. Список цитированной литературы включает 228 источника.

Во введении **Ева Игоревна** описывает актуальность выбранного направления исследования, формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, новизна полученных экспериментальных данных, их теоретическое и практическое значение.

Обзор литературы написан очень подробно и включает современные сведения, необходимые для обоснования цели и задач работы. Принципиальных замечаний к этому разделу нет, однако, очень часто отсутствует расшифровка аббревиатур при первом упоминании.

В главе “Материалы и методы” **Ева Игоревна** детально описывает использованные экспериментальные подходы, методы анализа и статистической обработки. Схемы

экспериментов и использованные методы абсолютно адекватны поставленным задачам. Работа выполнена на большом экспериментальном материале, полученные результаты адекватно проанализированы, что делает их достоверными и не вызывающими сомнений. По этому разделу есть небольшие замечания: 1. Как проводили перфузию?; 2. Не совсем понятно все ли реакции проводили на свободно плавающих срезах толщиной 50 мкм. Было бы логичнее вставить упоминание о приготовлении срезов перед началом изложения иммуногистохимического протокола.

Результаты работы очень подробно и логично описаны, и хорошо проиллюстрированы. Работа выполнена на высоком методическом уровне, поражает объем полученных результатов. Имеются небольшие замечания.

Требуется пояснение: в таблицах 2, 3 и 4 звездочками помечены текстовые поля «размеры клеток», но не указано значение этого символа. Также в подписях к таблицам с данными нет расшифровок символа «+», и нет пояснений о наличии достоверностей и статистической обработки данных.

Требуется пояснение: в подписях ко всем рисункам с гистограммами указан односторонний дисперсионный анализ (ANOVA) с критерием Стьюдента–Ньюмена–Келса. В Материалах и Методах указано, что для сравнения между 4 группами использовали теста Крускала-Уоллиса с последующей коррекцией Бонферрони.

Результаты работы подробно обсуждаются в следующей Главе 4. В ходе обсуждения всесторонне проанализированы собственные данные в сопоставление с данными, полученными другими авторами. Обсуждение результатов логично и обосновано написано. По этому разделу есть дискуссионный вопрос. Полученные результаты свидетельствуют о том, что повреждение конечного мозга привело к повышению числа CBS позитивных клеток. Однако в работе данный факт интерпретирован как прямое подтверждение повышения продукции сероводорода (стр 174): «в результате травмы конечного мозга, количество H<sub>2</sub>S продуцирующих клеток резко возрастает, что приводит к увеличению общей продукции сероводорода в мозге молодых кеты». Известно, что CBS катализирует взаимодействие между L-гомоцистеином и L-серином с образованием L-цистатинина и H<sub>2</sub>O без образования H<sub>2</sub>S. И только в случае замены L-серина на L-цистеин образуется H<sub>2</sub>S вместо H<sub>2</sub>O в качестве продукта реакции. Однако реакционная способность CBS по отношению к L-цистеину ниже по сравнению с L-серином. CBS также катализирует образование лантионина и

гомолантионина с выделением H<sub>2</sub>S при реакции между двумя молекулами цистеина и гомоцистеина. Другой путь синтеза H<sub>2</sub>S включает активность двух ферментов - цистеиновой аминотрансферазы (CAT) и 3-меркаптопируватной сульфуртрансферазы (3-MST). Было показано, что CAT катализирует превращение L-цистеина в 3-меркаптопируват, в то время как последний подвергается катализируемой 3-MST реакции вместе с α-кетоглутаратом с образованием L-глутамата, пирувата и H<sub>2</sub>S. Кроме того, показан путь синтеза H<sub>2</sub>S из D-цистеина путем его окисления D-аминокислотной оксидазой (обзор Aschner et al., 2022). Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что CBS является не единственным посредником в реакции образования сероводорода и на основании повышения его экспрессии, без оценки содержания H<sub>2</sub>S в ткани мозга, можно только выдвигать предположение о повышении продукции H<sub>2</sub>S. Хотелось бы узнать мнение автора по этому вопросу.

Хочу отметить, что высказанные мной замечания по данной работе не принципиальны и не умаляют значимость проведенного исследования.

Научные положения диссертационной работы Евы Игоревны Жариковой полностью обоснованы. Положения выносимые на защиту и выводы диссертации сформулированы на основе полученных данных и отвечают поставленным задачам. Автореферат полностью соответствует диссертации. По теме диссертации опубликовано 14 работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для защиты диссертаций. Результаты работы многократно докладывались на Российских конференциях.

Хочу отметить, что высказанные мной замечания по данной работе не принципиальны и не умаляют значимость проведенного исследования.

Научные положения диссертационной работы Евы Игоревны Жариковой полностью обоснованы. Положения выносимые на защиту и выводы диссертации сформулированы на основе полученных данных и отвечают поставленным задачам. Автореферат полностью соответствует диссертации. Основные результаты диссертации представлены в 15-ти печатных работах, из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, также исследования успешно представлялись автором на различных конференциях.

## Заключение

Диссертационная работа Евы Игоревны Жариковой «Регенераторно-ассоциированные факторы при персистентном и репаративном нейрогенезе в конечном мозге лососевых рыб» является законченным научным исследованием и полностью соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, 01.10.2018 № 1168, 20.03.2021 № 426, 26.09.2022 № 1690, 26.10.2023 № 1786, 25.01.2024 № 62), а ее автор, Ева Игоревна Жарикова, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология.

Официальный оппонент

заведующая Лабораторией сравнительной  
биохимии клеточных функций Федерального  
государственного бюджетного учреждения  
науки Институт эволюционной физиологии и биохимии  
им. И. М. Сеченова Российской академии наук,  
доктор биологических наук  
по специальности 1.5.4 – биохимия  
Глазова Маргарита Владимировна

Адрес: 194223, Россия, г. Санкт-Петербург,

проспект Тореза, д. 44

Телефон: +7-921-7870034

Сайт: [www.iephb.ru](http://www.iephb.ru)

e-mail: [mglazova@iephb.ru](mailto:mglazova@iephb.ru)

