

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Алипера Александра
Мироновича на тему: «Полиотранскриптомное исследование активации сигнальных
путей при старении и действии ионизирующего излучения, поиск геро- и
радиопротекторов», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология

Актуальность темы исследования и степень разработанности темы

Сигнальный путь представляет собой последовательность передачи информации от молекулы к молекуле в строго определенном порядке. Известно, что существование сложных многоклеточных организмов возможно только благодаря координации в пространстве и синхронизации во времени биохимических процессов, протекающих в их клетках. Основой такой координации служат межклеточная коммуникация и передача сигнала внутри отдельных клеток. Актуальность избранной темы заключается в изучении взаимосвязи эффектов облучения ионизирующими излучением и старением организмов. На чем основывает автор возможность такой взаимосвязи? Во-первых, в литературе описано сокращение продолжительности жизни у мышей, облученных нелетальной дозой редкоионизирующих излучений. Во-вторых, эпидемиологические исследования людей, выживших после облучения в результате взрывов атомных бомб в Японии показали, что отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений могут быть связаны с ускоренным развитием заболеваний, характерных для более пожилых людей. Процессы, приводящие к старению, обусловлены накоплением ошибок с течением времени и/или программируемым угасанием функций организма. Обнаруживаются некоторые общие молекулярные механизмы, связанные с последствиями действия ионизирующих излучений на организм и старением. Действительно, ионизирующие излучения в основном вызывают повреждения генетического аппарата и индуцируют развитие злокачественных новообразований. В процессе старения организмов также происходит изменение генетического аппарата, включая накопление вредных соматических мутаций в клетках, которые провоцируют разнообразные зависящие от возраста заболевания, в том числе и онкозаболевания. Кроме того, в процессе старения организмов происходит снижение способности клеток к reparации ДНК, и укорочение теломер, – участков ДНК на концах хромосом. Этот эффект является одной из причин ограничения возможного числа делений клеток и, соответственно, старения организма. При действии ионизирующих излучений в результате радиолиза воды образуются свободные радикалы, ответственные за непрямое действие радиации. В процессе старения организмов также

ВХОД №	783
ДАТА	04.06.2019
КОЛ-ВО ЛИСТОВ	6

накапливаются повреждения, индуцированные свободными радикалами. Свободные радикалы являются очень реакционноспособными и могут приводить к повреждению биологических молекул, а, в конечном счете, к возникновению различных заболеваний и старению организмов. В этом заключается прямая схожесть процессов старения и последствий действия ионизирующих излучений. Существуют и другие гипотезы старения, включая окислительный стресс – процесс повреждения клетки в результате окисления, когда молекула исходного вещества может стать нестабильной и распасться на более стабильные и мелкие части. В радиационной генетике известен эффект плейотропии, когда один и тот же ген ответственен за функционирование нескольких процессов, особенно плейотропия характерна для генов, кодирующих сигнальные белки. Известна антагонистическая плейотропия, когда в организме существуют гены, полезные в молодом возрасте и вредные позднее, когда эффект естественного отбора слабый.

В целом, механизмы, приводящие к старению, автор условно разделяет на две группы: 1) накопление ошибок с течением времени; 2) программируемое угасание функций организма. Следовательно, поиск эффективных протекторов посредством активации этих путей при старении и действии ионизирующих излучений – актуальная задача современного направления радиобиологических исследований. Фактически в диссертационной работе предпринята попытка изучения взаимосвязи эффектов облучения и процессов старения, поэтому автор формулирует цель своего исследования следующим образом. Целью настоящей работы являлась разработка подхода для поиска протекторов, защищающих не только от действия ионизирующего излучения, но и от старения организмов.

Каковы были основания автору полагать, что можно найти общий подход для поиска эффективных геро- и радиопротекторов. Автор обосновывает этот подход известными данными о некоторых общих закономерностях проявления генной экспрессии клеток человека в процессе старения и в результате воздействия ионизирующих излучений. Анализ экспрессии генов является одним из наиболее общепризнанных подходов для идентификации первичной реакции клеток на стресс, в том числе и на старение и облучение ионизирующим излучением. Отсюда логично следует, что анализ изменения полного или специфического набора молекул РНК в ответ на облучение является, по мнению автора работы (а я с ним согласен), стремительно развивающимся, направлением современной радиобиологии. Поэтому в диссертации исследуются механизмы старения и реакций клеток на воздействие ионизирующих излучений, анализируются основные сигнальные пути, вовлеченные в оба процесса, а также способы их подавления или активации.

Научная новизна результатов исследования и их практическая значимость

Новые научные результаты в данной работе получены на основании анализа и выявления общих закономерностей проявления старения и вредного действия ионизирующих излучений. Для этого автор использует многие международные базы данных, включая хранилище, в котором собраны ДНК-чибы, результаты секвенирования нового поколения и другие данные о геномике, а также архив данных, собранный из результатов экспериментов, полученных с помощью высокопроизводительных методов молекулярной биологии. При этом автор использует около 15 современных пакетов программ. На этом основании автор разработал подход для практического поиска протекторов, защищающих не только от действия ионизирующего излучения, но и от старения организма.

Основные собственные результаты автора приведены в 3-ей главе диссертации, содержащей три оригинальных раздела. Мне очень понравилось, что каждый раздел содержит самостоятельный литературный обзор, методы исследования, результаты, обсуждения и заключения.

В первом разделе изучены активация сигнальных путей в процессе старения. Проведено сравнение фибробластов из культуры нормальных клеток и больных с ускоренным старением. На этом основании сделан вывод, что пути передачи сигналов в клетках от молодых пациентов, но страдающих ускоренным старением, сопоставимы с клетками здоровых людей более пожилого возраста. Приведенные в диссертации результаты показывают, что старение клеток является необходимым условием для старения на анатомическом уровне. Автор намечает пути поиска новых медикаментозных средств, которые могли бы быть применимыми как для лечения ускоренного старения, так и для замедления нормального старения. Однако возникает вопрос – стоит ли искать эти средства, если старение является генетически запограммированным явлением.

Во втором разделе третьей главы анализируются результаты генной экспрессии при воздействии ионизирующего излучения в малых и больших дозах, которые сравниваются с аналогичными при старении. Среди новых результатов, приводимых в данном разделе, заслуживают упоминания следующие положения. На уровне генной экспрессии и регуляции сигнальных путей показано, что репликативное старение клеток по многим показателям похоже на последствия облучения ионизирующим излучением в дозе 2 ГР, чем в дозе 5 сГР. Различие между фенотипами наблюдается уже через 4 часа после облучения. Эта закономерность изменения уровней экспрессии генов обеспечивают новое понимание механизмов повреждающего воздействия ионизирующего излучения.

В заключительном разделе третьей главы доказана применимость некоторых конкретных алгоритмов и методов, основанных на анализе САП (сила активации пути), для оптимизации процессов предсказания и поисков новых лекарств с геропротекторными свойствами. Анализ дифференциально экспрессированных генов клеток линии А375, инкубированных с 51 модификатором реакций клеток на облучение, показал, что 26 веществ по многим показателям вызывают изменения транскриптомного профиля облученных клеток, запускающих клеточный ответ на стресс и процесс старения.

В целом, в рецензируемой работе продемонстрированы геропротекторные эффекты нескольких известных веществ, сформулированы новые подходы к предсказанию и открытию геропротекторов. Предложенный автором подход иллюстрирует потенциальную важность анализа сигнальных путей и возможностей их активации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации и их достоверность

Результаты и выводы диссертационной работы Алипер А.М. базируются на обширном экспериментальном материале, поэтому являются обоснованными и достоверными. Результаты работы отражены в весьма солидных научных публикациях. Они также были неоднократно представлены на российских и международных конференциях. Важно подчеркнуть, что диссертация выполнена на современном методическом уровне, соответствующем мировым стандартам. Суть этих стандартов сводится к тому, что любые радиобиологические и генетические работы должны сопровождаться анализом механизмов на молекулярном уровне. Именно такой подход прослеживается на протяжении всей диссертационной работы «Полнотранскриптомное исследование активации сигнальных путей при старении и действии ионизирующего излучения, поиск геро- и радиопротекторов». Поэтому надежность, обоснованность и достоверность полученного материала, а также выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Оценка содержания и оформления работы

Диссертационная работа написана по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, описание результатов исследования с их обсуждением, заключение, выводы, список сокращений и список литературы, состоящий из 456 источников, большинство из которых опубликованы на английском языке, имеются ссылки только на пять работ отечественных авторов. Текст диссертации изложен на 105 страницах машинописного текста и включает ряд рисунков и таблиц. При изложении результатов собственных исследований автору, помимо общего

обзора литературы, на основании которого автор формулирует цели исследований, пришлось заново добавлять в каждый раздел самостоятельный литературный обзор, конкретизировать методы исследования, описывать и обсуждать получаемые результаты и формулировать обобщающие заключения.

Знакомство с диссертацией показывает глубокое знание автором теоретических вопросов по теме работы. В целом, следует отметить стилистические достоинства диссертационной работы, ясное и четкое изложение полученных результатов, адекватные и полностью обоснованные выводы, хотя не без грамматических погрешностей. В диссертации описаны две вновь созданные открытые базы данных геропротекторов и радиопротекторов. Основные результаты диссертационной работы отражены в 8 работах, приводимых в автореферате диссертации, одна из них представляет собой патент на изобретение, одна из статей только принята в печать, другая находится на рецензии. Содержание автореферата последовательно отражает основные положения диссертации. Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Мне не очень понравился способ цитирования литературы – номера по порядку встречаемости, поэтому приходилось почти постоянно открывать список литературы, чтобы понять, кого же автор цитирует. Не всегда ясно из изложения диссертации, какие экспериментальные данные получены автором, а какие обобщены им на основании анализа литературы.

Заключение

Диссертационная работа Алипера Александра Мироновича на тему: «Полнотранскриптомное исследование активации сигнальных путей при старении и действии ионизирующего излучения, поиск геро- и радиопротекторов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой дается новое решение актуальной задачи – разработка нового подхода для поиска эффективных геро- и радиопротекторов, основанный на анализе профилей генной экспрессии клеток человека в процессе старения и в результате воздействия ионизирующих излучений. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Алипера Александра Мироновича соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Алипер Александр Миронович заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиobiология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории исследования комбинированных воздействий Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук, профессор

Петин Владислав Георгиевич

Вл. Петин

249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д.4

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации
тел.: 8-910-526-67-03 эл.почта: vgpelin@yahoo.com

«30» мая 2019 г.

Подпись доктора биологических наук, профессора Петина Владислава Георгиевича заверяю:

Ученый секретарь Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат биологических наук

Печёнина Нина Александровна

«31»

