

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Жикривецкой Светланы Олеговны «Транскриптомный анализ стресс-ответа и старения *Drosophila melanogaster*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – «Радиобиология»

Изучение физико-химических основ развития и коррекции стрессовых и патологических процессов, а так же исследование механизмов действия факторов различной природы на гомеостаз биологических объектов является важной мультидисциплинарной научной проблемой. В рассматриваемой работе в качестве стрессирующих воздействий используются: ионизирующая радиация, холодовой шок, грибковая инфекция и голод. В настоящее время накоплено большое количество знаний о взаимодействии всех этих стрессирующих воздействий с биологическими объектами, влиянии на различные биологические функции и реакции. Диссертационная работа С.О. Жикривецкой, посвященная изучению влияния ионизирующей радиации, холодового шока, грибковой инфекции и голода на стресс реакции организма плодовых мушек, является еще одним вкладом в эту копилку.

Научная новизна ряда результатов полученных диссидентом не вызывает сомнений. Новые знания о процессах, происходящих в живых объектах под действием стрессирующих факторов, полученные диссидентом обоснованы. Можно полагать, что ряд результатов, полученных диссидентом, окажутся полезными при экспериментальном обосновании, а также разработке нормативных документов.

Диссертация написана по традиционной схеме. Состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, самих результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы. Список цитируемой литературы, по данным диссидентанта, включает 473 источника.

В обзоре литературы, состоящем из шести подглав, представлены сведения, непосредственно касающиеся предмета изучения. Сразу же должен написать, что литературный обзор читать интересно, хотя я был не со всем согласен, а форма изложения материала порой кажется излишне упрощенной. В первой подглаве изложены взгляды диссидентанта на генетические основы механизмов старения. Глава начинается с данных о продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*. Продолжительность жизни различается в разных научных источниках и очень сильно зависит от внешних факторов. На основании этого делается вывод о том, что генетическая основа старения превалирует. Как по мне, рассуждения не лишены внутренних противоречий! В следующей подглаве, изложены факты, касающиеся влияния малых доз различных стрессов на продолжительность жизни. Приведена интересная аналогия влияние потребления алкоголя на показатель смертности. Основная мысль такова, что смертельно в больших дозах, в малых может быть полезно. На мой взгляд, подглава написана довольно ярко и интересно. Отдельная подглава посвящена механизмам стресс-ответа на воздействие ионизирующей радиации. Подглава начинается с того, что диссидентант довольно неуклюже предпринимает попытку объяснить, чем малые дозы ионизирующей радиации отличаются от больших... После этого, переходит к описанию отдаленных последствий наступающих после воздействия малых доз. В общем

подглава имеет не малый объем, который достигается за счет использования не самых современных данных. Четвертая подглава касается механизмов воздействия стресс-факторов разных типов, а именно температуры, инфекции и голода. Внутри подглавы каждому из факторов уделено отдельное внимание. Температура, много написано про гипертермию, сильно меньше про гипотермию. Положительный эффект холодового стресса на продолжительность жизни в экспериментальных условиях подтвержден на различных видах животных. Предполагается, что положительный эффект низких температур на продолжительность жизни обуславливается уменьшением скорости основных химических реакций. Диссертант ставит по сомнение данную точку зрения ссылаясь на две работы по *C. elegans* слабо относящихся к делу. Голодание и инфекционный процесс, написано много, интересно и по делу. Пятая подглава названа: «Общность механизмов стресс-ответа и гормезиса», в ней изложена суть предидущих четырех глав, проведен анализ состояния. Из текста подглавы можно сделать три основных вывода: «1) устойчивость к одному типу стресса в большинстве случаев приводит к устойчивости к другим, совершенно отличным стрессовым факторам, 2) среди путей стресс-ответа или механизмов горметического эффекта наблюдается немало общих точек для разных стрессов и разных биологических видов», и 3). гормезисные эффекты до сих пор изучены недостаточно. На основе данных трех выводов автор формулирует задачи и пути их решения. Также диссертант добавляет к литературному обзору еще одну, шестую подглаву. В последней подглаве обзора литературы рассказано о методах оценки уровня мРНК генов. Что касается меня, то я данную главу не оценил. Она явно выглядит чужеродно!

В целом обзор литературы написан интересно и информативно, но в нем есть несколько проблем. Первая, приводятся только те данные, которые ложатся в концепцию диссертанта. Вторая, явная недостаточность современных данных. Если посчитать, сколько в диссертации ссылок на работы последних 5 лет, то мы узнаем, что их менее 8%. Ссылок на работы 2018 года – 0 шт. (0%); 2017 – 3 шт.(0,6%); 2016 – 6 шт. (1,3%); 2015 – 12 шт. (2,5%); 2014 – 17 шт. (3,6%). При поиске в системе PubMed по ключевым словам «hormesis» мы узнаем, что за последние пять лет вышло более 500 статей. Возникает вопрос, где они? Третья проблема, нет данных российской литературы! По малым дозам в российской литературе последних лет гигантское количество информации! Работают много коллективов, даже второй оппонент по диссертации имеют работы в данной области радиобиологии. Некоторые из работ являются пионерскими, а некоторые просто необходимы для объяснения результатов полученных диссертантом. Например, работы И.И. Пелевиной, могли бы предложить альтернативное объяснение полученных диссертантом результатов по малым дозам.

В главе посвященной постановке экспериментов и методам проведения исследований приведено описание используемых в диссертации методов и подходов. Нужно сказать, что глава написана тщательно и понятно, не вызывает вопросов. Используемые методы и подходы позволяют решить поставленные в диссертации задачи. Большшим плюсом, на мой взгляд, является наличие подглавы «Статистический анализ данных». Единственным недостатком данной подглавы является отсутствие обозначений коэффициентов в упрощении уравнения Гомпертца.

Экспериментальные результаты представлены пятью подглавами входящих в главу 3. Первая подглава посвящена анализу воздействия малых доз ионизирующей радиации на продолжительность жизни особей *Drosophila melanogaster*. Представлено, изменение продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* после облучения ионизирующей радиацией в малых дозах. Вычислено, большое количество различных показателей, чтобы выяснить, что данные показатели обозначают необходимо прочитать и диссертацию и автореферат, так как половина расшифровок находится в диссертации, а вторая – в автореферате. Что касается результатов, то в целом, на женские особи плодовых мушек радиация действует менее выражено. Полученные данные диссертант представляет в координатах логарифм смертности – возраст, для представленных закономерностей вычислены коэффициенты корреляции. Значения коэффициентов корреляции на с.60 и на рисунке 3 существенно отличаются! Более того, в одном из случаев они являются отрицательными числами. Как это могло получиться, при возведении во вторую степень не ясно!

В следующей подглаве представлен анализ экспрессии 29 генов в ответ на воздействие малых доз ионизирующей радиации. В тексте присутствует специальная таблица, в которой представлены все гены, выбранные для анализа экспрессии в образцах особей *Drosophila melanogaster*, подвергнутых воздействию радиации в малых дозах. Для каждого гена приведено название, функция, белок и ссылка. Для гена CG13323 функция неизвестна, но ссылка есть. Для чего в скрининговой работе использовать гены с неизвестным функционалом? В целом глава очень сложна для понимания, черно-белые рисунки плохо читаемы! Хорошо, что данная часть работы опубликована с цветными рисунками и внятными пояснениями в виде статьи.

В третьей подглаве представлен анализ выживаемости особей, подвергнутых воздействию разных стресс-факторов, а именно ионизирующему излучению, холodu, голоду и грибковой инфекции. Очевидно, что с помощью данных стресс-факторов можно уморить любой биологический объект. У диссертанта получается уморить плодовых мушек только с помощью ионизирующей радиации и грибковой инфекции. Голода и холода использовано недостаточное количество.

В четвертой подглаве представлен анализ локомоторной активности особей, подвергнутых воздействию разных стресс-факторов. Стресс факторы все те же: ионизирующее излучение, холод, голод и грибковая инфекция. Диссертант считает, что в данной подглаве показано, «что негативный эффект ионизирующего излучения на локомоторную активность прямо пропорционален дозе, что согласуется с данными литературы (Parashar et al, 2008)». Я в корне не согласен с выводами автора. Суть заключается в следующем, диссертант регистрирует отличия в проценты, а контрольные измерения отличаются друг от друга в разы (сотни процентов). То есть, все измерения приведенные в подглаве можно смело считать недостоверными. Кстати, ссылок на работу «Parashar V, Frankel S, Lurie AG, Rogina B. The effects of age on radiation resistance and oxidative stress in adult *Drosophila melanogaster*.// Radiat Res. 2008 Jun;169(6):707-11. doi: 10.1667/RR1225.1.» в списке литературы две штуки.

В финальной подглаве представлен анализ транскриптомов особей, подвергнутых воздействию разных стресс-факторов. Глава наиболее интересная, в ней сосредоточено наибольшее количество новых результатов, однако ее очень сложно прочитать, подписи на

рисунках слишком мелкие! Однако это неудобство компенсируется главой 4, обсуждение результатов. После этой главы в диссертации расположены выводы и список литературы. В целом выводы диссертации не являются в широком смысле слова выводами, это скорее совершенно конкретные утверждения, следующие из текста работы. Список литературы также следует упомянуть. Интересной особенностью списка литературы является присутствие в нем, как минимум двух разных стилей оформления ссылок. Одни из стилей похож на PubMed, второй скорее всего сформирован вручную. В списке есть дублирующие ссылки, оформленные в разных стилях. Есть и вообще интересный пример. Дублирующая ссылка книги Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни // М.: Наука, 1991. — 280 с. на русском и английских языках.

Несмотря на некоторую критику, диссертационная работа Жикривецкой Светланы Олеговны является самостоятельным и законченным научным исследованием, в котором сформулирован ряд научных положений, являющихся новыми по своей постановке и предлагаемым направлениями решения. Автореферат, в целом, отражает содержание диссертации. Результаты, изложенные в диссертации, прошли апробацию на одной конференции, что негусто по самым слабым меркам. Всего опубликовано 4 работы, из них все 4 в рецензируемых уважаемых научных изданиях. Содержание всех работ можно оценить, как отличное, однако только две работы имеют отношение к диссертации. Отношение двух других работ к диссертации поверхностное.

В целом, диссертационная работа Жикривецкой Светланы Олеговны «Транскриптомный анализ стресс-ответа и старения *Drosophila melanogaster*» удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, (с изменениями № 335 от 21.04.2016)) и соответствует заявленной специальности 03.01.01 – Радиобиология, а ее автор, Жикривецкая Светлана Олеговна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология.

Ведущий научный сотрудник

Научного центра волновых исследований

Института общей физики им. А.М. Прохорова

Российской академии наук,

доктор биологических наук

10.01.2019г.

Подпись С.В. Гудкова 



Сергей Владимирович Гудков

Исполняющий обязанности

ученого секретаря ИОФ РАН

д.ф.-м.н. С. Н. Андреев

Федеральное государственное учреждение науки Научный центр волновых исследований Института общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 38, ИОФ РАН, [S\\_makariy@rambler.ru](mailto:S_makariy@rambler.ru), +79151530850

ВХОД №	96
ДАТА	11.01.2019
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	4
ФГБУ ПЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России	