

ОТЗЫВ

Официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Засухиной Г.Д. на диссертацию Жикривецкой Светланы Олеговны на тему: «Транскрипционный анализ стресс-ответа и старения *Drosophila melanogaster*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология.

Актуальность темы диссертации.

Проблема старения является одной из самых исследуемых, изучаемых, дискуссионных на протяжении истории цивилизации. По этой причине изучение вклада одного из факторов – стресса – влияющего на этот процесс, является исключительно актуальным. Влияние радиационного воздействия на процесс старения является как важным, так и дискуссионным. Автором для изучения механизмов ответа организма на стрессы различной природы использована прекрасная модель – дрозофилы, характеризующаяся короткими жизненными циклами. Для решения вопросов общности и специфики стресс-ответа на различные экзогенные воздействия и влияния их на старение использованы самые современные методы оценки поведения генов, вовлеченных в стресс-ответ.

Достоверность и новизна диссертационного исследования.

Достоверность научного положения, выводов и рекомендаций диссертаций С.О. Жикривецкой подтверждается корректным использованием математического аппарата, адекватных методов.

Результаты диссертации имеют несомненную научную новизну, заключающуюся в оригинальном подходе к решению вопроса стресс-ответов на экзогенные воздействия разной природы и влияния их на старение. При этом использованы самые современные методы биологии, основанные на изучении изменений конкретных генов, специфики и общности их реакций на различные воздействия и вклад изменений активности генов в старение.

Результаты работы прошли апробацию на ряде научных форумов, опубликованы в 4 зарубежных статьях.

Значимость для науки и практики полученных диссидентом результатов.

Полученные в диссертационной работе С.О. Жикривецкой результаты имеют значение в области таких актуальных проблем биологии как продолжительность жизни, старение, влияние экзогенных факторов разной природы на процессы жизнедеятельности организма. Подходы и методы для оценки стресс-ответа и его связи со старением, применяемые при исследовании

ВХОД №	26
ДАТА	14.01.2019
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	7
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России	

профилей экспрессии ряда генов, их взаимовлияния, специфики и общности в зависимости от вида экзогенного воздействия, могут быть использованы для изучения механизмов функционального состояния и патологических процессов у различных организмов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

В соответствии с формулой специальности 03.01.01 «Радиобиология», охватывающей проблемы последствия ядерных катастроф (п.9), принципы и методы радиационного мониторинга (п.10), в диссертационной работе С.О. Жикривецкой представлены методы, позволяющие оценивать влияние экзогенных воздействий на жизнедеятельность организма и старение.

Оценка содержания работы и ее завершенность.

Работа построена по традиционному плану. Обзор литературы включает около 500 источников и посвящен генетическим основам механизмов старения, особенностям эффекта малых доз радиации, механизмам стресс-ответа при воздействии экзогенных факторов разной природы. Достоинством обзора является анализ данных литературы по конкретному вопросу, освещенному с разных точек зрения. При этом автор использовала литературные данные не только по исследуемому организму – дрозофиле, но и приводит сведения по нематодам, дрожжам, экспериментальным животным.

В главе «Материалы и методы» подробно изложены и даны сравнительные характеристики методов, позволяющие оценить достоинства и недостатки каждого.

Главное в «Результатах» - это анализ воздействия малых доз радиации на продолжительность жизни особей мужского и женского пола дрозофиллы. Анализ полового диморфизма в изменении продолжительности жизни в ответ на радиационное воздействие малых доз сделан на основе изучения динамики экспрессии ряда генов, который позволил выявить эффект гормезиса малых доз радиации и половой диморфизм в его проявлении.

Следует подчеркнуть, что выбор генов для анализа экспрессии при действии радиации сделан обоснованно и прекрасно представлен в таблицах, в которых изложены данные по названиям кодируемых белков, основным процессам, отражающим функции генов и источник, на основании которого конкретные гены использованы для эксперимента. Естественно, что при разных экзогенных воздействиях: радиация, инфекция энтомопатогенными грибками, гипотермия (+4, 0, -4), вовлечены разные гены и их изменения в ответ на различные экзогенные воздействия неодинаковы. Представляют интерес данные

об огромном числе вовлеченных генов при холодовом стрессе: более 5000 генов с показателями низкой экспрессии, 31 – с высоким уровнем; тогда как при воздействии высоких доз радиации (144Гр, 360Гр) 670 генов характеризует низкий уровень экспрессии, 486 – сверхэкспрессию. Если воздействие радиации в таких высоких дозах, голодание, инфекция приводят к снижению продолжительности жизни, то гипотермия не оказывает такого эффекта.

Дифференциация экспрессии генов наблюдалась при различных стресс-факторах, на основании чего автор делает заключение об общности изменений метаболизма для всех стресс-реакций. Однако различия в количестве вовлеченных генов при стрессах разной природы делает в какой-то степени дискуссионным этот вывод, хотя он имеет право на существование.

Положения, выносимые на защиту, отражают основные результаты диссертационной работы. Выводы сформулированы четко и следуют из результатов работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом.

Безусловным достоинством работы является применение самых современных методов биологии для понимания ответа организма на стрессовое воздействие и влияние его на процесс старения. К достоинствам работы можно отнести подход к выявлению общности и специфики ответа организма на стресс разной природы: радиация в разных дозах, инфекция грибками, гипотермия и влияние этих воздействий на продолжительность жизни. Половой диморфизм на стресс в изменении продолжительности жизни доказывается показателями динамики изменения экспрессии генов.

Диссертация хорошо оформлена, написана прекрасным языком, содержит ценные результаты о влиянии стрессов на старение.

В качестве вопросов и замечаний дискуссионного характера можно отметить следующее:

1. Автор на страницах работы дает четкое определение гормезиса как стимулирующего эффекта разных стресс-факторов на разные показатели жизнедеятельности, в том числе продолжительность жизни. Однако следовало бы определить понятие стресса, влияние которого на старение изложено в монографии И.Г.Тодорова, Г.И.Тодорова «Стресс, старение и их биохимическая коррекция», Наука,2003. В этой монографии цитируется Селье, в котором постулируется тезис «о стереотипной форме биохимических и структурных изменениях». Вместе с тем дискуссионным можно считать вывод автора о том, что «метаболические изменения являются общей для всех стресс-реакций».

В отличие от радиационных воздействий и гипотермии, инфекция является пролонгированным фактором, при котором происходят временные количественные изменения, влияющие в динамике на жизнедеятельность организма, что делает сомнительным отнесение инфекций к понятию гормезиса.

2. Одной из форм гормезиса является адаптивный ответ, который заключается в том, что в предварительно облученных малыми дозами радиации клетках или организмах последующее облучение высокими дозами радиации сопровождается повышением устойчивости клеток, которое выражается в снижении индуцированных мутаций (хромосомные аберрации, микроядра, генные мутации), повышении выживаемости. Автором использован сравнительно новый критерий в ответ на облучение в малых дозах – продолжительность жизни. По этой причине было бы интересно использовать этот критерий в исследованиях. Вместе с тем, этот комментарий можно рассматривать скорее как пожелание, чем недостаток.
3. На стр.6 автор рассматривает «...старение как широко распространенное заболевание...». Представляется, что старение – это нормальное физиологическое состояние человека в разных периодах времени, которое не всегда сопровождается патологическим статусом, который можно характеризовать как заболевание.
4. На стр.13 написано, что «старение – следствие накопленных нарушений в результате воздействия различных стрессов». Но в норме частота нарушений в нормальной клетке, связанных, в частности, со свободнорадикальным механизмом, огромна: ежедневно возникают 20000 повреждений ДНК (разрывы, апуриновые сайты, N⁷-метилгуанин и др.). Поэтому экзогенные стрессы только количественно увеличивают спонтанно протекающий процесс с постоянно возникающими нарушениями.
5. В обзоре литературы и разделе «Обсуждение» при анализе литературных данных о путях взаимодействия генов и их регуляции, возможно, стоило кратко отметить роль некодирующих РНК и их влияние на уровни экспрессии генов.

Сделанные замечания носят дискуссионный и, в определенной степени, рекомендательный характер и не умаляют безусловных достоинств работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Диссертационная работа Жикривецкой Светланы Олеговны на тему: «Транскрипционный анализ стресс-ответа и старения *Drosophila melanogaster*» представлена на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01. – Радиобиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема, имеющая важное радиобиологическое и научно-практическое значение для радиационной безопасности человека.

Диссертация Жикривецкой Светланы Олеговны соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 (с изменениями от 21 апреля 2016года №335) и соответствует заявленной специальности 03.01.01 – Радиобиология, а ее автор Жикривецкая С.О. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01. – Радиобиология.

Доктор медицинских наук, профессор,
Главный научный сотрудник
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук

10.04.2019 г.
Подпись Г.Д. Засухиной верна


Галина Дмитриевна Засухина

Ученый секретарь ИОГен РАН
доктор биологических наук
профессор РАН
С.К. Абильев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3. ИОГен РАН,
zasukhina@vigen.ru
+7 (499) 135-62-13

