

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР
ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК»
(ИЦИГ СО РАН)

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск,
630090
Телефон: (383) 363-49-80
Факс (383) 333-12-78
E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru
<http://www.bionet.nsc.ru>
ИНН 5408100138/КПП 540801001
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

16.03.2016 № 15345-01-2171

на № _____ от _____

Утверждаю
Директор ФГБНУ ФИЦ
«Институт цитологии и
генетики СО РАН»

Академик РАН Н.А. КОЛЧАНОВ
«16» марта 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр
– Институт цитологии и генетики СО РАН» на диссертационную работу

Дюжиковой Натальи Алековны

**«Цитогенетические и молекулярно-клеточные механизмы
постстрессорных состояний», представленную на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности**

03.03.01 – физиология

Актуальность темы диссертационной работы.

Проблема стресса в современном мире не только не утрачивает свою актуальность, но, напротив, привлекает к себе внимание все более широкого круга исследователей, так как стресс имеет значение не только как медико-биологический феномен, но в значительной степени как социальное явление. Диссертационная работа Дюжиковой Натальи Алековны посвящена

изучению биологических аспектов стресса, исследованию базальных механизмов стрессовых реакций на клеточном уровне. Это - типичная цитогенетическая работа, для которой характерно описание динамики морфофункциональных цитологических процессов, обусловленных работой генетического аппарата клетки. Автора интересуют ответы на один из главных вопросов, каковы клеточные механизмы формирования длительных постстрессорных состояний, которые могут в значительной степени влиять на последующее развитие и судьбу организма, определять его физиологические возможности и вероятность развития патологических состояний. Из литературы хорошо известно, что последствия даже кратковременного стресса могут иметь длительный характер. Многими авторами развиваются представления о «программирующей» функции стресса, особенно если его действие совпадает с так называемыми критическими периодами развития. Однако, несмотря на широко развернутые исследования отсроченных эффектов стресса и в некоторых случаях их детальное описание, механизмы формирования таких постстрессорных изменений во многом остаются невыясненными. Их длительное сохранение может косвенным образом указывать на вовлечение генетических процессов, что позволяет этим изменениям воспроизводиться в ряду поколений делящихся соматических клеток. Можно полагать, что большую роль играют перестройки эпигенетических регуляторных систем. Именно эта сторона вопроса определяет главную цель и поставленные автором диссертационной работы исследовательские задачи. Актуальность такой постановки не вызывает ни малейших сомнений.

Цель диссертационной работы сформулирована автором следующим образом: «Цель работы - исследовать цитогенетические (уровень хромосомных aberrаций, состояние хроматина) и молекулярно-клеточные, генетические и эпигенетические механизмы влияния психоэмоционального стрессорного воздействия разной интенсивности и продолжительности на

формирование адаптивных и долговременных патологических постстрессорных состояний у крыс линий, различающихся по возбудимости нервной системы».

В рамках этой целевой установки автором были поставлены 7 основных задач, которые сводились к следующему: (1) Исследование молекулярно-биологических параметров предрасположенности к развитию постстрессорных состояний; (2) У крыс линий, различающихся по возбудимости нервной системы, оценка уровня хромосомных aberrаций и состояния хроматина (С-гетерохроматина) в клетках развивающегося гиппокампа в нормальных условиях и после пренатального эмоционально-болевого стрессорного воздействия; (3) У зрелых крыс линий, различающихся по уровню возбудимости нервной системы, исследовать влияние мутагена циклофосфана и эмоционально-болевого стрессорного воздействия (короткого и длительного), на частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга, а также изучить возможность стрессовой модификации эффектов циклофосфана; (4) Получить оценку влияние короткого эмоционально-болевого стрессорного воздействия на состояние хроматина (С-гетерохроматина) нейронов гиппокампа и сенсомоторной зоны коры; (5) Исследовать влияние суточной активности на спонтанное и связанное со стрессом состояние хроматина (С-гетерохроматина) в нейронах гиппокампа; (6) Изучить влияние длительного эмоционально-болевого стрессорного воздействия на состояние хроматина (С-гетерохроматина) и его эпигенетические модификации, связанные с содержанием метил-цитозин связывающего белка - MeCP2, 5-метилцитозина, ацетилирование гистонов H3 и H4, метилирование и фосфорилирование гистона H3 в нейронах гиппокампа и сенсомоторной коры в динамике долгосрочных изменений до двух месяцев после воздействия; (7) Изучить паттерн полиморфизма ретротранспозона LINE1 (L1) и индуцированные эмоционально-болевыми стрессорными воздействиями инсерции L1 в ген *grin1* ключевой субъединицы NR1 NMDA рецептора, а также количество вариаций числа

копий гена *grin1* по отношению к референсным генам (*ywhaz*, *gapdh*, *rpl13a*) и между ними в геномной ДНК, выделенной из гиппокампа и костного мозга.

Научная новизна исследований

Сразу же необходимо отметить, что бесспорную оригинальность проделанной работе придает объект исследования – уникальные, полученные в лаборатории автора, линии крыс, селекционированные на протяжении многих поколений по уровню нервной возбудимости. В диссертации получены новые доказательства участия стресса в определении долговременных функциональных изменений работы мозга с участием системы генетических регуляций. Показано, что индуцируемые стрессом цитогенетические процессы лежат в основе этих долговременных изменений. Они включают процессы реорганизации хроматина, эпигенетические модификации ДНК и гистонов, и активацию мобильных генетических элементов. Важно, что постстрессорные цитогенетические изменения исследованы как на зрелом, так и на развивающемся мозге. Описанные эффекты стресса исследованы автором диссертации впервые и полученные результаты являются полностью оригинальными. Впервые исследован характер цитогенетических эффектов стресса в зависимости от генетических особенностей нервной возбудимости.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертации

Главным теоретическим обобщением автора является развиваемое в диссертации положение о базовом значении цитогенетических перестроек и эпигенетической регуляции функции генома в реализации длительных постстрессорных изменений нервных процессов и других функциональных характеристик организма. Развитие этих положений в работе автора позволяет квалифицировать диссертацию Н.А. Дюжиковой в качестве фундаментального научного исследования. Наряду с этим необходимо

отметить получение автором диссертации результатов, имеющих важное прикладное значение, в частности, для медицинской науки, так как раскрытие механизмов постстрессорных нарушений позволяет наметить новые пути их профилактики и терапии. Исследование зависимости цитогенетических постстрессорных реакций от генетически обусловленных характеристик нервной возбудимости имеет значение для развития персонифицированной медицины, а данные по взаимодействию влияния внешних неблагоприятных факторов (опыты с циклофосфаном) с цитогенетическими эффектами стресса необходимо учитывать при изучении патофизиологических механизмов формирования патологии в экологически неблагоприятной среде.

Структура и общая характеристика диссертации

Диссертация Н.А. Дюжиковой представляет объемный труд, изложенный на 246-и страницах, состоящий из следующих основных разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение и Выводы. Список цитируемой литературы включает 683 публикации, из которых 149 вышли в Российских изданиях и 534 – в зарубежных. Материал иллюстрирован 22-я рисунками и документирован в 50-и таблицах.

Во Введении весьма подробно дано обоснование актуальности выбранной темы и дается краткая литературная справка об основных научных разработках и тенденциях в выбранной автором сфере исследований. Сформулированы цели и задачи, отмечены главные теоретические и практические результаты работы и дана оценка их оригинальности и новизны. Кратко изложены методология и основные методы исследований и сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Дана оценка достоверности полученных результатов, которая подтверждается при дальнейшем рассмотрении работы.

Материалы диссертации были доложены на большом количестве научных конференций и симпозиумов и опубликованы в 18 статьях в научных журналах. Широкая представленность материалов диссертации в рецензируемых изданиях еще раз говорит о высокой степени достоверности представленных в диссертации результатов. В десяти журнальных статьях Н.А. Дюжикова является первым автором, что говорит о ее решающем личном вкладе в получение излагаемых в диссертации научных результатов.

Изложение собственных материалов предваряется обширным литературным обзором. Обзор литературы, представленный в отдельной главе, занимает 65 стр. и является важнейшей частью диссертации. На мой взгляд, он представляет собой блестящий пример способности автора анализировать имеющийся литературный материал, что абсолютно необходимо для правильного выбора направлений собственных исследований, что и нашло отражение в результативности и научной значимости диссертационной работы.

Следующая за Обзором литературы глава Материал и методы дает хорошее представление о богатстве методических приемов, употребленных автором в процессе выполнения диссертационной работы. Автор одинаково успешно владеет основными методами цитогенетики, иммуноцитохимии и молекулярной генетики, а также несомненно демонстрирует прекрасные способности в организации физиологического эксперимента, что внесло решающий вклад в успешное решение поставленных автором научных задач.

Полученный фактический материал подробно изложен в главе Результаты. Эта глава хорошо структурирована и иллюстрирована. Весь цифровой материал представлен в таблицах, что дает читателю возможность убедиться в **полной достоверности** последующих умозаключений и выводов. Точно также высокой оценки заслуживает глава Обсуждение, в которой подробно и со всех точек зрения дана оценка полученного материала

и его систематизация. Еще в более концентрированном виде системная оценка диссертационного материала приведена в разделе «Заключение».

Полученные результаты суммированы в 7-и выводах, которые заключают диссертацию. Выводы в очень краткой и четкой форме дают представление об основных фактических находках автора диссертации. Выводы полностью соответствуют цели и задачам диссертационного исследования и объективно в концентрированном виде отражают полученные результаты. Достоверность и обоснованность выводов не вызывают сомнения.

Текст автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

В завершение хотелось бы отметить, что главным успехом, в определенном смысле открытием автора стало то, что было показано, что основным механизмом формирования долговременных постстрессорных как физиологических, так и патологических изменений являются эпигенетические процессы, изменяющие регуляцию генома и работу физиологических систем организма.

Общая высокая оценка диссертационной работы Н.А. Дюжиковой позволяет мне без всякого ущерба для диссертации сделать несколько непринципиальных для судьбы работы замечаний:

1. К сожалению, в таблицах не приводится число N (количество измерений). Правда, указание на степень статистической достоверности сравниваемых цифровых значений, может свидетельствовать, что величина N была достаточной для получения искомым величин достоверности различий.
2. Иногда, когда в одной таблице анализируются эффекты двух факторов (например, линии и возраста), целесообразно было бы использовать 2-х факторный дисперсионный анализ для более интегральной оценки полученного материала.

3. Сожаление вызывает, что в спектре эпигенетических механизмов регуляций, рассматриваемых автором, отсутствуют некодирующие РНК, в частности микро-РНК, роль которых в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов получает все более возрастающее освещение в литературе.

Сделанные замечания не уменьшают высокой оценки представленной диссертации и служат только одной цели – поощрению автора к продолжению очень интересной и перспективной работы.

Заключение

Диссертационная работа Дюжиковой Натальи Акоповны «Цитогенетические и молекулярно-клеточные механизмы постстрессорных состояний» является оригинальной и завершенной научно-исследовательской работой. По основным критериям диссертация Дюжиковой Н.А. отвечает всем требованиям (пп. 9-11, 13 и 14) «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденному Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК Министерства образования и науки РФ к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании межлабораторного семинара, Протокол № 16-1 от 14 марта 2016 г.

Зав. лабораторией эволюционной

генетики ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН,

д.б.н., проф. А.Л. МАРКЕЛЬ



Сведения о составителе отзыва:

ФИО (полностью): Маркель Аркадий Львович

Уч. степень, уч. звание: д.б.н., проф.

Должность: зав. лабораторией

Структурное подразделение: лаборатория эволюционной генетики

Учреждение: ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

Полный почтовый адрес учреждения: 630090, Новосибирск 90, пр. акад. Лаврентьева, 10

Телефон учреждения: +7(383)363-49-80

E-mail учреждения: icg-adm@bionet.nsc.ru