ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ (ФАНО РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук (ИФ РАН)

199034, Санкт-Петербург, Васильевский остров, набережная Макарова, д. 6
188680, Ленинградская обл., Всеволожский район; Колтушское сельское поселение, село Павлово, ул. Быкова, д. 36
Телефоны: (812) 328-0701, 328-1301
(813) 70-72-501.
Факсы: (812) 328-0501, (813) 7072-485.
Общие вопросы E-mail: direkcija@kolt.infran.ru
Научные вопросы E-mail: tch@infran.ru
Сайт: http://www.infran.ru
ОКПО 02698565 ОГРН 1037800014823
ИНН 7801022898 / КПП 780101001

От «21» 03 2016 г. №. 2115/001-137

На № _____ от «___» _____2016 г.

УТВЕРЖДАЮ:
Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук,

_____

чл.-корр. РАН, д.б.н. Л. П. Филаретова

21 марта 2016 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ НА ДИССЕРТАЦИЮ ШАРИФУЛИНОЙ С.А. «ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕАКЦИЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02.- Биофизика.

Актуальность темы выполненной работы

Работа ШАРИФУЛИНОЙ С.А. посвящена механизмам регуляции реакций нервной ткани на фотодинамическое (ФД) воздействие. Фотодинамическая терапия (ФДТ) в настоящее время используется для разрушения раковых клеток, включая опухоли головного мозга. При этом часто повреждаются не только злокачественные клетки, но и окружающие их здоровые в том числе нейроны и клетки глии, что приводит к побочным эффектам и неврологическим расстройствам. В последние годы показано, что в регуляцию процессов гибели и выживания клеток мозга широко вовлекаются эпигенетические процессы. Наиболее интенсивно в этой связи изучаются модификации ДНК и гистонов, в том числе метилирование и ацетилирование. Эти эпигенетические процессы принимают участие в индукции или репрессии значительного числа функционально важных генов. И что важно показано, что через воздействие на эпигенетические механизмы можно в значительной мере влиять на нейродегенеративные процессы. В настоящее время данные исследования широко ведутся в ведущих лабораториях мира. Однако влияние ФД

ИФ РАН зак.0189. 900 экз. 2016-01-12

воздействий на эпигенетические процессы в клетках нервной системы практически не изучено. Поэтому проведенные автором исследования о роли эпигенетических процессов в реакциях нервных и глиальных клеток на ФД воздействие является актуальной задачей нейробиологии.

Об актуальности проведенных исследований и важности полученных данных о вовлечении эпигенетических процессов в гибель клеток индуцируемую ФД свидетельствуют также публикации автора как в рецензируемых российских, так и зарубежных изданиях.

Степень обоснованности, достоверность и новизна научных положений и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Важной особенностью работы ШАРИФУЛИНОЙ С.А. является сочетание различных методов исследования как биофизических, так и современных молекулярных, в том числе чип-технологий. Применение этих методов, а также использование широкого спектра активаторов и ингибиторов эпигенетических процессов позволило автору получить новые данные о молекулярных механизмах гибели нервных клеток при фотодинамическом воздействии. Используя в качестве модели нервную систему рака автором впервые показано, что такие эпигенетические процессы как метилирование ДНК и ацетилирование гистонов по-разному вовлечены в гибель глиальных клеток и нейронов, индуцируемых ФД. Так показано, что метилирование ДНК участвует в фотоиндуцированном некрозе глиальных клеток, тогда как деацетилирование гистонов участвует и в некрозе и апоптозе глии. И что важно, данные процессы не вовлечены в гибель нейронов (введение ингибиторов ДНК-метилаз, предотвращает гибель клеток глии, однако не протектирует гибель нейронов, сходный эффект оказывает и введение ингибиторов гистондеацетилаз). Известно, что метилирование ДНК ведет к репрессии широкого спектра генов играющих важную роль в функционировании мозга. Ацетилирование гистонов в отличие от метилирования ДНК ведет к индукции экспрессии генов.

Впервые методом чип-анализа автором проведены сравнительные исследования фотоиндуцированных изменений уровня экспрессии широкого класса белков вовлеченных в регуляцию эпигенетических процессов в брюшной нервной цепочке речного рака и коре головного мозга мыши. Показано, что при фотодинамическом воздействии изменяется уровень экспрессии белков, участвующих как в индукции гибели нервных клеток, так и их выживании. Впервые описан ряд белков вовлекаемых в процесс фотоиндуцируемой гибели нервных клеток в том числе белки связанные с подавлением процессов ацетилирования гистонов (HDAC1, HDAC 11, SIR2), или метилированием ДНК, а также ряд транскрипционных факторов. При этом было показана достаточно большая степень пересечения белков вовлекаемых в процессы

гибели/протекции нервных клетоток у организмов стоящих на разном уровне развития (рака и мыши). Ряд белков является ткане- и видоспецифическими. В результате полученных знаний автором построены заключительные схемы защитных и повреждающих процессов, протекающих в брюшной нервной цепочке речного рака и коре головного мозга мыши при фотодинамическом воздействии.

Результаты, полученные С.А. Шарифулиной, имеют научную значимость как с точки зрения углубления имеющихся фундаментальных представлений о защитных и повреждающих процессах, протекающих в нервной ткани при фотодинамическом воздействии, так и с точки зрения решения проблем повышения эффективности ФДТ. И как обоснованно полагает автор - полученные данные об участии эпигенетических механизмов, таких как деацетилирование гистонов и метилирование ДНК, в реакции нервной ткани на ФД воздействие могут быть использованы при разработке селективных способов ФДТ опухолей мозга. Кроме того, описанные автором белки вовлеченные в механизмы гибели клеток при ФД-воздействии могут являться потенциальными мишенями для возможного терапевтического воздействия.

Полученные диссертантом результаты могут быть использованы при проведении научно-исследовательской работы и при чтении лекций по биофизике и нейробиологии на профильных кафедрах.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям положения ВАК.

Структура представленной диссертационной работы стандартна и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части и обсуждения результатов (2-4 главы), заключения, выводов и списка литературы (227 источника). Иллюстративный материал включает 36 рисунков и 6 таблиц.

Обзор литературы, представленный в работе, достаточно полно освещает вопросы, имеющие отношение к теме исследования. В нем рассмотрены следующие аспекты: виды клеточной смерти, влияние фотодинамического эффекта и окислительного стресса на гибель клеток. Освещены вопросы, связанные с механизмом метилирования ДНК и модификациями гистонов (эти процессы относятся к эпигенетическим). Отдельный раздел посвящен функциям белка p53. Представлен обзор данных, касающихся вовлечению эпигенетических процессов в деструктивные фотодинамические воздействия.

Работа выполнена на современном уровне с использованием различных биофизических и молекулярных методов исследования в том числе чип-технологий. Применяемые методы и подходы адекватны поставленным задачам. Методики подробно изложены. Исследования выполнены на двух видах животных речном раке (брюшная нервная цепочка) и мышах (кора

головного мозга). Статистическая обработка адекватна. Богатый арсенал методов, которыми владеет автор, позволило провести всестороннее комплексное исследование согласно задачам, что позволило получить новые данные о механизмах гибели нервных клеток при фотодинамическом воздействии. Обсуждение результатов проведено с привлечением современных литературных данных. Выводы обоснованы полученными результатами исследования. В целом диссертационная работа оставляет хорошее впечатление. Научная значимость, достоверность и обоснованность результатов, представленных диссертантом, не вызывают сомнения.

В качестве достоинства работы особенно следует отметить значительное число публикаций по теме диссертации, в том числе публикаций в иностранных журналах. Все результаты получены лично автором либо с его участием что подтверждается опубликованными статьями в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК и в материалах иностранных и российских конференций.

В то же время, по после ознакомления с работой остается ряд вопросов и замечаний.

1. Замечание по выводу 3.

Активирование белка p53 посредством теновина-1, RITA, нутлина-3 и WR-1065 повышает уровень фотоиндуцированного апоптоза глиальных клеток. Следовательно, белок p53 вовлечен в апоптоз глиальных клеток, вызванный фотодинамическим воздействием. Такой однозначный вывод можно сделать только на основе применения ингибиторов белка p53, но никак не активаторов.

2. Второе замечание относится к обзору литературы.

В целом литературный обзор написан хорошо за исключением раздела 1.3. Основные эпигенетические механизмы, подразделы:

1.3.1 Механизм метилирования ДНК;

1.3.2 Модификации гистонов

Эта часть обзора написана небрежно, часто страдает дефектами логики и изобилует стилистическими погрешностями и повторами. Эпигенетический код хотя и упоминается, но что он из себя представляет никак не расшифровывается. Не приводится примеров механизмов влияния метилирования ДНК на экспрессию генов.

Сделанные замечания не умаляют основных достоинств рецензируемой диссертации.

ИФ РАН зак.0189. 900 экз. 2016-01-12

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа С.А. Шарифулиной имеет все необходимые элементы, позволяющие считать ее отвечающей требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Актуальность представленной работы, перечень исследованных вопросов, научная новизна и возможности практического применения позволяют отнести ее к числу исследований хорошего научного уровня. По уровню выполнения и полноте представления в научных публикациях в том числе иностранных обсуждаемая диссертация заслуживает положительной оценки, а ее автор, С.А. Шарифулина - присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности – биофизика (03.01.02.).

Диссертация рассмотрена на расширенном заседании лаборатории Регуляции функций нейронов мозга Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук _3 марта_ 2016 г. (протокол №2).

ВНС лаборатории Регуляции функций нейронов мозга

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

«Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН

Д.Б.Н., доцент Гринкевич Л. Н.

Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург,

наб. Макарова, дом 6; Телефон: (813) 70-72-50;

Факс: (813) 7072-485; E-mail: larisa_gr_spb@mail.ru

Подпись Гринкевич Л.Н. заверяю

ИФ РАН зак.0189. 900 экз. 2016-01-12