

**ОТЗЫВ**  
официального оппонента  
на диссертацию Светланы Анатольевны Шарифулиной  
**«ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕАКЦИЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика**

Диссертационная работа С.А. Шарифулиной посвящена оценке фотодинамического воздействия на регуляторные процессы в нервной ткани, что является одной из проблем, относящихся к области медицинской биофизики. Несмотря на очевидную значимость проблемы реакции нормальных тканей при фотодинамической терапии, эта проблема к настоящему моменту недостаточно изучена, поэтому актуальность данного направления не вызывает сомнения. Опухоли головного мозга относятся к наиболее трудно поддающимся терапии злокачественным новообразованиям, в том числе из-за возникающих при лечении побочных эффектов. Не лишена этого и фотодинамическая терапия, являющаяся относительно щадящим методом лечения. Знания фундаментальных основ процессов, происходящих в нервной ткани в результате фотодинамического воздействия, может послужить хорошей основой для улучшения результатов воздействия за счет понимания механизмов, лежащих в основе гибели нормальных клеток.

Возникающие при фотодинамическом воздействии активные формы кислорода и свободных радикалов не только обладают токсическим действием, но и запускают целый ряд регуляторных процессов, которые существенным образом сказываются на устойчивости клеток и тканей. Уровень этих активных продуктов в клетке находится под контролем сложной системы, включающей, в том числе, Анализ полученных

результатов позволил диссидентанту предложить гипотетическую схему защитных и повреждающих процессов, протекающих в коре головного мозга мыши при фотодинамическом воздействии.

Диссертация написана на 137 страницах текста. Литературный обзор включает анализ большого числа как отечественных, так и зарубежных источников. Кроме обзора литературы в диссертации представлены введение, описание объекта и методов исследования, главы с полученными результатами и их обсуждением (3-4 главы), заключение, выводы, список литературы (227 источников). Иллюстративный материал включает 36 рисунков и 6 таблиц.

Автором представлен информативный литературный обзор, в котором достаточно подробно рассмотрены фотодинамический эффект и возникающий в его результате окислительный стресс; виды клеточной гибели и основные эпигенетические механизмы регуляции – метилирование ДНК и модификации гистонов. Отдельно описаны эпигенетические процессы при фотодинамическом воздействии и функции одного из наиболее важных для регуляции клеточной гибели транскрипционных факторов – белка p53. Обзор в целом хорошо знакомит с основными концепциями описываемых областей, однако не свободен от мелких огражек, в основном касающихся не выправленных опечаток в виде несогласованных падежей, пропуском слов или, наоборот, неубранными в процессе редакции словами. Есть и мелкие смысловые погрешности: например, на странице 14 приводится непонятное без объяснений понятие «структурное нарушение внутренних шивок», на странице 25 написано: «Механизм ФД повреждения нейронных и глиальных клеток определяется внутриклеточной локализацией фотосенсибилизатора, это связано с диффузией синглетного кислорода в фотосенсибилизованных клетках». Более точным представляется указать, что локализация повреждений определяется как раз ограничением пробега синглетного кислорода из-за его высокой реакционной способности, т.е. локализация повреждений определяется отсутствием его диффузии на достаточно

большие расстояния. Остается только догадываться, что подразумевается под выражением «Эти корреляции значительно зависят от многих переменных, включая... …(4) анализ эндогенного p53 или сверхэкспрессируется;», по-видимому, должно быть «анализ эндогенного p53: *нормален ли его уровень или он сверхэкспрессируется;*».

К сожалению, достаточно большое количество возникших при редактировании текста и не выправленных ограхов встречается и в остальных разделах работы. Встречаются в тексте и выражения уместные в английском языке и странно выглядящее по-русски: «HDAC ингибиторы» вместо «ингибиторы HDAC», «защищают нейроны от глутамат токсичности» вместо «защищают нейроны от токсичности глутамата».

Раздел «Материалы и методы» в целом хорошо написан и впечатляет использованных методик из разных областей: биофизики – регистрация импульсной активности механорецепторного нейрон, фотодинамическое воздействие на объект, гистологических – с использованием флуоресцентного прокрашивания при воздействии различных фармакологических агентов, протеомных с исследованием эпигенетических изменений в нервной ткани. К сожалению, был упущен раздел по статистической обработке результатов, в частности, остается неясным, какой критерий был использован для определения достоверности результатов и что приводится в виде разбросов на графиках.

Проведенная автором экспериментальная работа, представленная в разделе «Результаты исследования» логично и последовательно изложены. Иллюстративный материал наглядно отражает результаты экспериментов. Получен целый ряд результатов, которые не дают оснований усомниться в значимости и новизне работы. В частности, впервые было показано, что метилирование ДНК участвует в фотоиндуцированном некрозе глиальных клеток, но не нейронов, а деацетилирование гистонов участвует в некрозе и апоптозе глии, но не нейронов речного рака при фотодинамическом воздействии. Кроме этого, было показано, что белок p53 участвует в апоптозе

глиальных клеток речного рака, вызванном фотодинамическим воздействием. Наиболее интересны впервые изученные фотоиндуцированные изменения уровня экспрессии эпигенетических белков в нервной ткани животных различных типов. Показано, что при фотодинамическом воздействии изменяется уровень экспрессии эпигенетических белков, регулирующих транскрипцию, ядерный импорт, апоптоз, модификации гистонов, пролиферацию и выживаемость клеток.

Интерпретация полученных диссидентом результатов представлена в разделе «Обсуждение результатов исследований интересна и подкреплена большим иллюстративным материалом, что позволило ей сделать обобщение в виде схем изменений защитных и повреждающих процессов в нервной ткани эволюционно далеких видов животных. Единственный вопрос, который возникает по прочтении этого раздела: почему автор считает, что увеличение уровня импортина, транспортирующего белки в ядро через ядерные поры, указывает на активацию метаболических процессов, связанную с усилением транскрипции? В равной степени импортин может опосредовать и транспорт факторов, которые могут подавлять транскрипцию.

Выводы, сделанные автором, теоретически обоснованы, достоверны, экспериментально подтверждены и отражают большую проделанную работу. Объем полученных данных вызвал определенные проблемы, связанные с количеством тех новых фактов, которые были обнаружены. Понятно стремление не раздувать список выводов, однако, хотелось бы, чтобы стремление ограничить их число не мешало бы их восприятию. В ряде случаев напрашивается разделение некоторых из них на 2 отдельных независимых вывода.

Автор не ограничился выводами и заключением и привел также раздел «Перспективы дальнейших исследований», в связи с чем возникает вопрос: не думает ли автор, что в планы дальнейших работ было бы правильно включить также исследование влияние фотодинамической терапии на

транскрипционные факторы, регулируемые уровнем окислителей, в частности, транскрипционный фактор NRF-2, который участвует в патогенезе ряда неврологических заболеваний.

Основные положения диссертационной работы представлены в 24 публикациях, в том числе, в 7 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Автор лично участвовал в проведении всех экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе, обсуждении, а также совместно с соавторами участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследования на семинарах, конференциях и симпозиумах.

По своей актуальности, новизне и содержанию диссертационная работа и автореферат С.А. Шарифулиной полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобразования России. Автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Подпись А.А. Розенкранца заверяю:  
декан биологического факультета МГУ,  
академик

М.П. Кирпичников

Ведущий научный сотрудник  
кафедры биофизики  
биологического факультета  
Московского государственного  
университета имени М.В. Ломоносова  
канд. биол. наук



А.А. Розенкранц

24.03.2016г.

#### ПОЧТОВЫЙ АДРЕС:

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,  
Биологический факультет МГУ  
ТЕЛЕФОН канцелярии: +7 (495) 938-01-90  
E-MAIL: info@mail.bio.msu.ru

5  
hetz