Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Российской академии наук

Отзыв на автореферат диссертации
Шарифулиной Свет ланы Анат ольевны
«Эпигенетические механизмы регуляции реакций нервной ткани на фотодинамическое воздействие»,

представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — Биофизика.

Работа Шарифулиной Светланы Анатольевны посвящена изучению реакции нервной ткани на стресс — фотодинамическую терапию (ФДТ), применяемую в лечении онкологий, в т.ч. опухолей мозга. Повреждающее действие ФДТ на клетки опухоли основано на генерации активных форм кислорода (АФК), но они же повреждают и здоровые клетки, окружающие опухоль. Изучение компенсаторных механизмов, потенциально присутствующих в нервных тканях, откроет возможность «включать» защитные режимы при сеансах ФДТ, снижая негативные последствия лечения и позволяя проводить терапию с бóльшим эффектом.

Работа проведена на двух разновидностях нервных клеток — собственно нейронах и глии, что подчеркивает современные воззрения на природу нервной ткани, в которой глии отводится не менее заметная роль, чем основным «труженикам» нервной системы. Один из ключевых полученных в диссертации результатов — что компенсаторный механизм в ответ на ФДТ включается именно в глии, а не в нейронах, — дополнительно укрепляет эту идею. Непосредственно объектами изучения выбраны механорецепторные нейроны и глиальные клетки, а также брюшные нервные цепочки рака, и в дополнение к ним — кора головного мозга мышей. Эксперименты состояли в изучении действия на клетки ФДТ (освещение лазером в присутствии фотосенсибилизатора) и ингибиторов различных ферментов, отвечающих за эпигенетический статус (ДНК-метилтрансфераз и гистондеацетилаз), в четырех возможных комбинациях. В серии дополнительных экспериментов на протеомных микрочипах выявлены белки, уровень экспрессии которых существенно менялся при ФДТ. Было показано, что в основном эти белки имеют отношение к регуляции генетической активности.

Основные полученные в работе результаты таковы: 1) Эпигенетические механизмы регуляции активности генов — метилирование ДНК и деацетилирование гистонов — можно отнести к фрагментам защитного механизма, включающегося вследствие ФДТ, но только в глиальных клетках, а не в нейронах. 2) Аналогичным образом, только в глиальных клетках в реакции на стресс принимает участие знаменитый транскрипционный фактор p53. 3) ФДТ вызывает изменение экспрессии генов многих важных для транскрипции и регуляции генетической активности белков.

На мой взгляд, полученные результаты интересны прежде всего тем, что они приписывают глии еще одну важную «обслуживающую» функцию — реакцию защиты от стресса, — что определяет глобальную инфраструктурную роль глиальных клеток в составе единой нервной ткани, вполне сопоставимую, а может и не меньшую, чем у самих нейронов.

В то же время, у меня есть по работе ряд замечаний, в первую очередь связанных с целеполаганием и уровнем обобщения полученных результатов:

1. Формула сделанных в работе открытий такова: {«метилирование» | «деацетилирование» | «p53»} участвуют в {«некрозе» | «апоптозе»} в глиальных клетках. Такая форма выявляет ряд сложностей, возникающих у автора с осознанием полученных результатов:

a. Что общего и что отличного у факторов в первых фигурных скобках? Перечисленные виды эпигенеческих модификаций и регуляторов транскрипции — это единственные возможные варианты? Очевидно, нет; но в таком случае стоило бы задаться более глобальной картиной происходящего в клетке, даже если по понятным причинам количество экспериментов и экспериментальных методов в работе было ограничено.
b. Что значит «участвует»? Усиливает или уменьшает? Помогает стрессовому ответу или мешает? Мы практически ничего не узнаём о механизмах этого «участия». Понятно, что такие эксперименты могут быть просто не доступны в ЮФУ, но в идеале хотелось бы увидеть изменение эпигенетического паттерна при ФДТ: какие именно гены регулируются, и как их продукты участвуют в ответе на стресс? Можно ли было бы это знание использовать для нейропротекции?
c. Если говорить про стрессовый ответ, то, кстати, возникает вопрос и по самой постановке эксперимента: изучая гибель нервной ткани в ФДТ, вообще можно ли говорить о нормальном механизме стрессоустойчивости и последующем возможном использовании его при разработке новых режимов ФДТ в лечении опухолей мозга?
d. Жаль, что, хотя неоднократно делается вывод о наличии компенсаторных механизмов в клетках глии, но не нейронах, значение этого результата почти не обсуждается в глобальном нейробиологическом контексте.

2. Полученные результаты слишком слабо обсуждены в разрезе перспектив создания нейропротекторных стратегий. Можно ли результаты как-то расширить, чтобы создать такие средства, совместимые с ФДТ и, возможно, применимые при других формах стресса нервной ткани?
3. Уровень экспрессии некоторых белков измеряли на нейронах рака и мозге мыши; но почему этого же не было сделано на глии? Или было? Или тут есть какая-то потерянная связь с первой частью полученных результатов? Всего этого я не понял.
4. Когда идет речь про повторные измерения экспрессии генов спустя 2 (1) и 11 (4) часов (кстати, почему разные интервалы для нейронов рака и мозга мыши?) спустя после ФДТ, очень сложно построить в уме закономерности, если они вообще есть. Данные приводятся в «сыром» виде (такой-то белок через N часов увеличен на столько-то, а через M часов — на столько-то), и непонятно, сама автор делает ли какие-то выводы из этих повторных измерений. Хотя, наверное, в такой кинетике и может скрываться полезная информация.

Надеюсь, если автор продолжит заниматься этой темой, мои замечания позволят внести некоторую корректировку в общий курс исследований, а также в вИдение глобальных целей и задач. Однако заданные вопросы не снижают впечатления от работы. Автореферат написан хорошо и почти без ошибок и оформлен по всем правилам. Количество и «качество» (IF журналов) опубликованных работ вполне достойно. Несомненно, проделанная работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор — Шарифулина Светлана Анатольевна — заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — «Биофизика».

4 апреля 2016 г.

с.н.с. Лаборатории моделирования биомолекулярных систем
Института биоорганической химии РАН, к.ф.-м.н. А.О. Чугунов

Адрес: 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Е-мейл: batch2k@yandex.ru

Телефон: +7-495-336-20-00.