

## ОТЗЫВ

### официального оппонента

на диссертационную работу Глинина Тимофея Сергеевича

“Пути стабилизации и дестабилизации генома клеток костного мозга мыши при действии ольфакторных хемосигналов”,

представленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – (генетика)

**Актуальность темы исследования** Влияние разнообразных факторов среды на поведение, иммунный и репродуктивный статус организмов, устойчивость и общую приспособленность отдельного организма отражается на структуре и численности популяций и, как следствие, на темпах изменения генотипа популяций. Сами организмы, по отношению друг к другу, могут играть роль стрессирующего фактора, как в пределах своего вида, так и в межвидовых контактах. Например, синдром гибридного дисгенеза у дрозофилы, ограничение эффективности близкородственных скрещиваний у мышевидных грызунов в природной среде и снятие таких запретов, например, на радиоактивно-загрязненных территориях, или при дальнейшем разведении таких животных в условиях лабораторий. Без сомнения, в основе таких реакций, лежат разные механизмы.

Одним из механизмов, определяющих величину и направление реакции в ответ на «биологический» фактор, может быть плотность населения изучаемых популяций – стресс, возникающий вследствие изменения плотности популяции, может выступать как фактор угнетения/усиления репродукции и изменения численности популяции, а отбор, уже в дальнейшем, может привести к элиминации «невыгодных» генотипов и закрепить новый генотип популяции. Однако в данном случае, мы просто констатируем получаемый результат и, практически никак, не говорим о возможных причинах происходящих изменений.

Ещё в 40-х годах XX века развитие генетики привело исследователей к пониманию роли внутриклеточного гомеостаза в поддержании стабильности процессов метаболизма ДНК. Исследования в этом направлении позволили получить данные о влиянии нервной системы и ее высших отделов на работу генов, пролиферативную активность и стабильность хромосомного аппарата клеток-мишеней. Было обнаружено, что на состояние нейроэндокринной системы у домового мыши влияют феромоны, содержащиеся в моче. В системе «самец- самец» было показано, что у лабораторных мышей воздействие таких хемосигналов увеличивает частоту хромосомных нарушений в половых и соматических

клетках. Влияние феромонов самок на стабильность соматических клеток изучено недостаточно. Этот недостаток предполагает закрыть данная диссертационная работа.

Тема рецензируемой диссертационной работы не совсем обычна для современной отечественной генетики. Крайне редко можно встретить работы, посвященные анализу механизмов действия «нейроэндокринных» агентов на генотип изучаемых особей. В работе рассматривается реакция генотипа лабораторных мышей трех линий на действие неинвазивных «стресс факторов», провоцирующих изменения в нейрогуморальном контроле мутационной изменчивости. Идея исследований базируется на физиологической гипотезе мутационного процесса М.Е. Лобашева, которая с 1947 года не утратила своей актуальности – в рецензируемой работе изучено последствия ольфакторного воздействия на стабильность генома.

Стабильность генома соматических клеток, как отмечает автор диссертационного исследования, является необходимым фактором для поддержания гомеостаза. Дестабилизация генома соматических клеток приводит к значительному числу патологий, являющихся главными причинами старения и смертности человека. Показано, что воздействие стресс-феромона самок мышей 2,5-диметилпиразина (2,5-ДМП) приводит к дестабилизации генома клеток костного мозга самцов домовых мыши, изучен генотоксический эффект различных стрессоров. Кроме того, в работе была показана возможность нейтрализации генотоксических эффектов индуцированных 2,5-ДМП и рентгеновским облучением при помощи хемосигналов самок-одиночек (ХСО).

**Научная новизна и практическая значимость.** В рецензируемой работе впервые показано, что воздействие 2,5- диметилпиразином индуцирует стресс-реакцию у самцов мышей. Показано, что именно стресс-реакция, вызванная данным хемосигналом, приводит к дестабилизации генома клеток костного мозга. Изучены нейроэндокринные пути действия 2,5- диметилпиразином и представлены доказательства того, что воздействие данного хемосигнала приводит к инактивации главных обонятельных луковиц, повышению концентрации кортикостерона, снижению концентрации окситоцина.

**Содержание работы** Диссертационная работа Т.С Глинина изложена на 175 страницах и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 368 наименований из которых 35 на русском языке. Результаты исследования представлены в 3 таблицах и на 33 рисунках.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулирована цель исследования и поставлены адекватные цели, задачи, определена научная новизна, практи-

ческая и теоретическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту. Здесь автор работы вводит понятие факторов «психосоциальной природы», не определяя их (стр.8). На стр. 136 он определяет их как «информационные». Учитывая неоднозначность применения такого словосочетания, особенно в части термина «психика», для мышевидных грызунов, хотелось бы узнать мнение диссертанта что диссертант понимает под психосоциальными характеристиками мышевидных грызунов. Все-таки использование психосоциальных характеристик больше подходит, на наш взгляд, для описания развития личности человека.

В первой главе, обзоре литературы, выполнен анализ источников, отражающий современное состояние проблемы исследования. Данная глава в полной мере отражает представления о теории стресса, физиологических механизмах реакции стресса и последствиях стрессовой реакции для организма. Достаточно полно рассмотрены механизмы поддержания стабильности генома в стрессовых условиях и роли ольфакторных воздействий в обеспечении контроля эффективности стрессовых ответов. Обобщение данных литературы в схемах и представленных на рисунках свидетельствует о том, что автор диссертационной работы критически осмыслил имеющийся материал, что говорит о высокой квалификации диссертанта в области исследования.

В главе «Материалы и методы» представлены схемы и протоколы экспериментов, описание методов анализа клеток костного мозга, определения гормонов. Структура данной главы подчинена изложению схем экспериментов, логично следующих друг за другом. Следует отметить, что диссертант в своей работе использовал различные варианты воздействий, в каждом варианте использовали число животных, позволяющих получать репрезентативно значимые результаты. Используемые методы статистического анализа корректны и соответствуют целям поставленных экспериментов. В большей части разделов данной главы схемы экспериментов представлены на рисунках-, что значительно помогает в осмыслении поставленных экспериментов. Всего в экспериментах было использовано около 500 мышей разных линий. Как общее замечание можно отметить некоторую неточность в представлении информации о способе воздействия – «перфорированные капсулы» с вложенной фильтровальной бумагой смоченной раствором 2,5 ДМП и капсула с дистиллированной водой (стр 60). Далее, здесь же, отмечено что «... при этом через 24 часа воздействия, капсулу с 2,5-ДМП обновляли, чтобы избежать испарения действующего вещества...». Как в эксперименте контролировали концентрацию действующего агента, учитывая, что концентрация 2.5 ДМП незначительна – 0,01 % водный раствор? Оценивали ли динамику изменения концентрации 2,5 ДМП в воздухе в зависимости от времени и температуры среды? Возможно ответ на эти вопросы можно будет найти в на рисунке 21,

предваряющем главу 3 «Результаты». Автором диссертационного исследования, как видно из рисунка 21, не выявлена зависимость выхода нарушений клеток костного мозга в зависимости от времени обработки 2,5 ДМП. Не означает ли это, что достаточно кратковременного воздействия для индукции изучаемых эффектов, тем более, что общая теория «стресса» это не запрещает? Более того, через 48 часов, т.е. после «обновления» раствора 2,5 ДМП величина эффекта снизилась до величины 4 часового воздействия.

Крайне интересным, на наш взгляд, выглядят результаты, представленные на рис.22, где объектом воздействия была линия BALB/c. Следует обратить внимание, что воздействие на протяжении 24 часов привело к достоверно значимому увеличению числа нарушений при  $p < 0,0001$ , для линии СВА – уровень значимости меньше ( $p < 0,001$ ). Полагаю, что оптимальным было бы и 4 часовое воздействие. Согласно рис. 23, 24, 25 достаточно и 2 или 4 часовое воздействие для получения достоверно значимого результата. Данная глава, по структуре изложения, полностью соответствует разделам главы 2. Как общее замечание, хотелось бы услышать обоснование, применяемых автором в своей работе 4 уровней значимости – традиционно в биологии используют 3 уровня, причем последний, 3, как правило, требуется при доказательствах эффективности влияния каких либо лекарственных агентов (иных) на показатели жизнеспособности организма.

Заключает рассмотрение результатов исследований глава 4 «Обсуждение». В обсуждение полученных результатов автор опирается на данные литературы и собственные, оригинальные, результаты. На наш взгляд интересны рассуждения автора о возможных механизмах радиопротекторного эффекта ХСО. Диссертант предполагает, по крайней мере, два механизма. По одному из них ХСО минимизирует только те нарушения, которые провоцируются не прямым действием ионизирующего излучения, т.е. предполагается специфичность ответных реакций ХСО. Вторая гипотеза говорит в пользу индукции дополнительных систем защиты от повреждений ДНК – в этом случае специфичность реакции не предполагается, учитывая нейрональный механизм действия ХСО на организм изучаемых особей. У диссертанта, как следует из обсуждения, нет какого-либо предпочтения к высказанным гипотезам. Однако, как показано руководителем диссертационной работы и самим диссертантом, измененная частота цитогенетических нарушений после воздействия «нейрональных» факторов обнаруживается как в соматических, так и половых клетках. Не исключает ли это «тканеспецифичность» действия изучаемых факторов?

Выводы диссертации отражают полученные в работе результаты и обоснованы корректной статистической обработкой.

В целом, диссертационная работа написана грамотно, ошибки и неточности встречаются крайне редко и, как правило, претензии могут быть высказаны к стилистике изло-

