

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук  
Екатерины Александровны Никитиной  
на диссертацию Тимофея Сергеевича Глинина на тему  
«Пути стабилизации и дестабилизации генома клеток костного мозга мыши при  
действии ольфакторных хемосигналов», представленную к защите на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности  
03.02.07 – генетика

Диссертационное исследование Т.С. Глинина посвящено исследованию роли ольфакторных психосоциальных факторов в индукции различных состояний нервной системы, приводящих к изменению дестабилизации генома клеток костного мозга с привлечением животной модели на мышах.

**Актуальность работы.** Для современной генетики и медицины крайне необходимо понимание механизмов поддержания стабильности генома соматических клеток. Дестабилизация их генома может приводить к возникновению большого числа патологий, в том числе таких социально-значимых заболеваний, как рак, атеросклероз, нейродегенеративные заболевания. Следует отметить, что несмотря на интенсивные исследования в этой области, данные заболевания получают все большее распространение. Это связано с тем, что имеющихся знаний о механизмах поддержания стабильности генома недостаточно для понимания патогенетической основы этих заболеваний. Кроме того, дестабилизация генома является одним из основных механизмов старения организма. Универсальным проявлением старения является ухудшение способности поддерживать базовый уровень гомеостаза и адекватно реагировать на стресс. Ответ организма на воздействие стрессорных факторов обусловлен специфической активацией нервной системы, что может быть выражено в активации развития стресс-реакции в ответ на одни воздействия и блокировании стресса в случае других воздействий. Детальному исследованию этой актуальной проблемы и посвящена диссертационная работа Т.С. Глинина.

Поскольку дестабилизация генома клеток играет важную роль в формировании большого числа патологий у млекопитающих, включая человека, изучение роли нервной системы в регуляции данного процесса, предпринятое в рамках диссертационного исследования Т.С. Глинина, представляет сугубый интерес как для фундаментальной науки, так и для прикладных медико-биологических исследований.

Необходимо подчеркнуть важность и перспективность исследований автора, посвященных изучению психосоциальных стрессорных факторов. Это представляется особенно важным в свете того, что у человека большая часть стрессоров относится к неинвазивным психосоциальным факторам. Понимание механизмов их действия требует поиска адекватных животных моделей. Удобной моделью для изучения психосоциальных стрессоров является использование социально-значимых хемосигналов у мышей.

Именно с использованием мыши в качестве модельного объекта автором показано, что именно стресс-реакция, вызванная хемосигналами, приводит к дестабилизации генома клеток костного мозга, проявляющейся в микроповреждениях ДНК, а также – в хромосомных перестройках, наблюдаемых при клеточных делениях.

Таким образом, изучение роли нервной системы в регуляции дестабилизации генома клеток соматических клеток является **актуальным направлением**, исследование которого позволит приблизиться к более глубокому пониманию механизмов развития целого ряда патологий, а также процессов старения.

**Структура диссертации.** Материал изложен ясно, диссертация хорошо структурирована и оформлена. Работа изложена на 175 страницах машинописного текста и состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, изложения материалов и методов исследования, собственных результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 33 рисунками и 3 таблицами. Однако нельзя назвать соотношение разделов в диссертации сбалансированным

по объему. Глава «Материал и методы» является излишне подробной. Список литературы включает 368 источников, из них 35 отечественных (7 – самоцитирование) и 333 зарубежных.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы исследования, четко и корректно сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, отражены методология и методы диссертационного исследования, личный вклад автора, степень достоверности и апробация результатов, структура диссертации.

В «Обзоре литературы» приводится развернутая характеристика физиологического стресса, в том числе его влияния на иммунную систему. Подробно разбирается влияние стресса на стабильность генома. Большое внимание уделено индукции физиологических ответов ольфакторными воздействиями у домового мыши, послужившей модельным объектом для проведения исследований. При чтении «Обзора литературы» становится очевидным, что автор обладает глубокими и обширными знаниями круга проблем и литературы по избранной тематике.

В главе «Материалы и методы» изложена общая характеристика экспериментального материала (высокоинбредные линии мышей), подробно описаны схемы экспериментов, методы исследования, в частности, метод щелочного кометного электрофореза, ана-телофазный метод учета нарушений митоза и хромосомных aberrаций, твердофазный иммуноферментный анализ, функциональная магнитно-резонансная томография, а также методы статистической обработки результатов. Автором использован широкий арсенал современных методик, позволяющих сделать обоснованное заключение по исследуемой проблеме.

В главе «Результаты и обсуждение» приведены результаты собственных исследований и анализ полученных данных. Экспериментальный материал изложен детально и хорошо проиллюстрирован рисунками. В экспериментальной части работы Тимофей Сергеевич проводит исследование

способности 2,5-диметилпиразина влиять на стабильность генома мышей. Обнаружено, что воздействие 2,5-ДМП повышает частоту нарушений митоза у различных линий мышей, это позволяет автору предполагать, что данный кластогенный эффект феромона является неспецифическим для домашней мыши.

В ходе исследования диссертант проводит сравнение динамики выявления микро- и макроповреждений ДНК при действии 2,5-ДМП. При этом пик возникновения нарушений митоза при предоставлении данного хемосигнала приходился на 24 часа воздействия, в то время как микроповреждения к этому моменту уже исчезали. На основании литературных данных и результатов собственных исследований автор приходит к заключению о роли репарационных механизмов в формировании ответной реакции на стресс.

Интересен раздел, посвященный сопоставлению эффекта быстрой дестабилизации генома, индуцированного 2,5-ДМП и другими стрессорными факторами, как полностью неинвазивными (хемосигналы мочи кошки), так и требующими физического контакта с животными (иммобилизация). Полученные диссертантом данные о дестабилизации генома клеток костного мозга у мышей при действии как классических стрессоров (воздействие мочи кошки и иммобилизация), так и 2,5-ДМП, являются оригинальными и представляют особый интерес в свете знаний о том, насколько важную роль играет соматический мутагенез в функционировании костного мозга и всей гематопоетической системы. Выявленная в данной работе способность нервной системы индуцировать геномную нестабильность соматических клеток при стрессе может объяснять высокую скорость мутагенеза, наблюдаемую в гематопоетических стволовых клетках и приводящую к апоптозу и истощению пула стволовых клеток костного мозга при старении.

Проведенное Т.С. Глининым изучение гормонального ответа на действие 2,5-ДМП показало, что в возникновении генотоксического эффекта после воздействия стрессора принимают участие как глюкокортикоиды, так и катехоламины, причем последние действуют через  $\beta$ -адренорецепторы. Эти

данные подтверждают возможность участия стресс-гормонов в быстрой индукции геномной нестабильности и представляют большой интерес для развития данной перспективной области исследований.

В ходе исследований балансовых взаимодействий 2,5-ДМП и хемосигналов самок-одиночек (ХСО) при индукции нарушений митоза в клетках костного мозга самцов мышей выявлено, что и генотоксический эффект 2,5-ДМП и протекторный эффект ХСО полностью исчезают при инактивации обонятельного эпителия. Это позволяет рассматривать используемые феромоны как источники социально значимой информации, а описанные генетические эффекты могут быть вызваны индукцией определенных состояний нервной системы животных.

Особо следует подчеркнуть логическую взаимосвязь всех разделов исследования, четкую постановку задач экспериментов, вытекающих из полученных в предыдущих частях работы результатов, что свидетельствует о комплексном походе автора к изучаемой проблеме.

Все результаты, представленные на защиту, получены либо лично диссертантом, либо при его непосредственном участии, что подтверждается опубликованными 7 статьями в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, и апробацией результатов на международных и российских конференциях. **Выводы** работы полностью обоснованы полученными результатами исследования.

Представленное Т.С. Глининым диссертационное исследование, несомненно, обладает научной новизной, демонстрируя, что предоставление 2,5-ДМП активирует ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники, и тем самым индуцирует стресс-реакцию у самцов мышей. Впервые были изучены нейроэндокринные пути действия 2,5-ДМП, и было показано, что предоставление данного хемосигнала приводит к инактивации главных обонятельных луковиц. Кроме того, впервые выявлено, что как гормональные, так и генотоксические эффекты 2,5-ДМП могут быть нейтрализованы предоставлением самцам мышей хемосигналов самок-одиночек.

**Теоретическая и практическая значимость работы** определяется полученными сведениями о способности острого стресса дестабилизировать геном клеток, поскольку повреждения генома клеток ассоциированы с патогенезом ряда заболеваний человека, таких как многие виды рака, нейродегенеративные заболевания, атеросклероз и заболевания кровеносной и иммунной системы. Полученные результаты являются безусловно значимыми для понимания механизмов возникновения данных заболеваний и поиска путей их терапии.

**Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации.** Экспериментальные данные, лежащие в основе диссертационного исследования Т.С. Глинина, получены на большом объеме животных, с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам, достоверность представленных в диссертации материалов не вызывает сомнений.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации.

Принципиальных **замечаний** по сути работы нет, однако она не свободна от редакционных погрешностей. В работе встречаются неточности оформления (на протяжении всей работы *et al.* пишется курсивом), орфографические и грамматические ошибки, досадные опечатки, в том числе на рисунках (рисунки 2, 14). Информационно перегружена глава «Материал и методы», излишне подробно описаны схемы экспериментов.

После прочтения текста диссертации остаются следующие **вопросы**.

1. Какие компоненты хемосигналов самок-одиночек (ХСО), являющихся сложносоставной смесью, могут играть преимущественную роль в протекторном эффекте ХСО?
2. Чем обусловлено проведение экспериментов 9 и 13 в двух независимых повторностях, а всех остальных экспериментов – в одной повторности? Считает ли автор достаточным одной экспериментальной повторности для обоснования основных положений работы?

3. При воздействии 2,5-ДМП в костном мозге мышей возрастает количество клеток с микроповреждениями ДНК, в частности, двунитевыми разрывами, возникновение которых связано с изменениями конформации ДНК. Может ли это свидетельствовать о влиянии 2,5-ДМП на конформационные перестройки ДНК, например, формирование крестообразных структур?

Данные вопросы носят дискуссионный характер и не отражаются на общей высокой положительной оценке диссертационной работы.

#### **Заключение.**

Учитывая совокупность представленных в работе материалов, совершенно очевидно, что диссертационная работа Т.С. Глинина представляет собой многостороннее исследование роли ольфакторных психо-социальных факторов в перестройке деятельности нервной системы, приводящей к изменению стабильности генома соматических клеток, что вносит значительный вклад в раскрытие механизмов развития целого ряда патологий, а также процессов старения.

Диссертация Тимофея Сергеевича Глинина тему «Пути стабилизации и дестабилизации генома клеток костного мозга мыши при действии ольфакторных хемосигналов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика является законченной научно-квалификационной работой, в которой сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно классифицировать как новое решение задачи по совершенствованию представлений о роли нервной системы в регуляции дестабилизации генома клеток соматических клеток, что имеет существенное значение для генетики.

Таким образом, диссертационная работа Глинина Тимофея Сергеевича, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «генетика», по содержанию, актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований и значению данных, соответствует критериям п.9, выдвигаемым «Положением о порядке присуждения ученых

степеней» (утверждено Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842 в редакции Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748) и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Глинин Тимофей Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

Заведующий кафедрой анатомии и физиологии человека и животных  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Российский государственный педагогический  
университет им. А. И. Герцена»  
доктор биологических наук (03.03.01 - физиология,  
03.02.07 – генетика), доцент



Никитина Екатерина Александровна

191186, Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48  
Тел.: 8(812) 643-77-67  
e-mail: [21074@mail.ru](mailto:21074@mail.ru)  
<https://www.herzen.spb.ru/>

17.04.2018.

РГПУ им. А. И. ГЕРЦЕНА

подпись

*Никитиной Е.А.*

удостоверяю «17» АПР 2018 года  
Отдел персонала и социальной работы  
управления кадров и социальной работы



Ведущий документовед  
отдела персонала и социальной  
работы  
*А.Д. Пызина*  
А.Д. Пызина