

Директор ФГБУ «РНЦРХТ»

Академик РАН

А.М. Гранов

29.12.2014



официального оппонента, руководителя лаборатории радиационной и онкологической генетики Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Российский Научный Центр Радиологии и Хирургических Технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации д.б.н., проф. Воробцовой И.Е. на диссертацию Курановой М.Л. «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктозии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Исследование Курановой М.Л. «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктозии» посвящено изучению клеточных проявлений наследственного нейродегенеративного заболевания атаксия-телеангиэктозия (АТ).

Актуальность темы диссертации.

Клиническая картина АТ, будучи весьма полиморфной, делает достаточно сложной правильную постановку диагноза, а молекулярно-генетические подходы затруднены из-за большого количества мутаций и полиморфизмов гена АТМ, обуславливающих данное заболевание. В связи с этим поиск клеточных маркеров АТ представляется актуальным для практической медицины. Так как для АТ характерно с одной стороны ускоренное старение, а с другой – повышенная частота злокачественных опухолей, клеточная модель АТ позволяет оценить реализацию этих двух

разнонаправленных процессов, что, несомненно, представляет интерес с точки зрения фундаментальной науки.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

Работа Курановой М.Л. отличается несомненной новизной как методической (предложен быстрый метод уточнения диагноза АТ на клеточном уровне), так и содержательной. Впервые выявлена мозаичность клеток по экспрессии pATM у пациентов с лёгкой формой АТ, обнаружено повышение экспрессии SIRT6 у больных АТ по сравнению со здоровыми донорами и пациентами с другими наследственными нарушениями репарации ДНК. Эти результаты могут быть полезными в клинической практике как для стратификации больных по степени выраженности заболевания, так и в целях дифференциальной диагностики. Такие показатели как состояние ядерной мембраны и содержание фермента SA- β -Gal могут быть использованы при разработке панелей маркеров для прогноза риска канцерогенеза при старении. Клетки пациентов с АТ, для которой характерно ускоренное старение и высокий риск канцерогенеза, представляют собой естественную модель с нарушенным ATM-зависимым сигнальным каскадом при ответе на возникновение двунитиевых разрывов ДНК. В этом контексте полученные в работе результаты вносят вклад в понимание механизмов старения и трансформации клеток, то есть имеют фундаментальное значение. Результаты изучения экспрессии триметилированных форм гистона H₃ (H₃K9me₃ и H₃K27me₃), гистоновых деацетилаз, гетерохроматинового маркера HP1- γ позволяют оценить роль эпигенетических механизмов в этих процессах.

Обоснованность основных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Работа проведена на большом и разнообразном материале – первичных фибробластах, клеточных линиях, полученных от больных АТ, пациентов с другими наследственными и ненаследственными патологиями, клетках здорового донора. Использованы 2 генотоксических фактора – облучение и блеомицин. Каждый вариант опыта ставился в трёх повторностях.

Исследовалось 8 клеточных маркеров с помощью современных методов иммунофлуоресценции и компьютерного анализа изображений. Всё это позволяет считать полученные результаты достоверными, а выводы и практические рекомендации обоснованными.

Общая характеристика работы.

Диссертация Курановой М.Л. построена традиционно, представлена на 125 страницах, список литературы – 151 работа, из них 140 иностранных. Автореферат полностью отражает содержание работы. По теме диссертации опубликовано 15 работ (3 из них в изданиях рекомендуемых ВАК).

Во Введении автор чётко обосновывает и формулирует цель и задачи работы.

Обзор литературы, занимающий 60 из 107 страниц текста обстоятелен, свидетельствует об эрудированности автора, затрагивает как общие вопросы, касающиеся синдрома АТ, так и проблемы ответа клетки на повреждение с помощью генетических и эпигенетических механизмов. Автор подробно описывает изменения этих механизмов при старении и трансформации, делая акцент на те, которые изучались в её работе. В конце обзора напрашивается краткое подведение итогов с указанием «белых пятен» и определением места своих исследований.

Глава – Материал и методы содержит описание клеточных линий, пациентов, метода получения культур фибробластов, иммунофлуоресценции, микроскопии, статистической обработки. К этой главе имеются замечания и пожелания:

- Характеристики клеточных культур, пациентов, описание синдромов желательно было бы упорядочить, например, с помощью таблицы.
- Условия облучения и воздействия блеомицином дать отдельным пунктом, обосновав выбор доз.
- В п. 3 описаны методы оценки не всех изученных клеточных показателей (нет методов для HP1γ, ядерной ламины, длины теломераз).

В главе – Результаты и обсуждение представлены разделы с данными по каждому из изученных клеточных маркеров и их обсуждением с привлечением соответствующей литературы. Так же, как и в обзоре литературы, автор демонстрирует глубокие знания, умение сопоставлять свои результаты с данными других авторов. Чувствуется преемственность исследований, проводимых в лаборатории, где выполнялась работа. Интересными представляются результаты по мозаичному клеточному составу больных с АТ лёгкой степени и объяснение этого явления тем, что носители АТМ мутаций являются генетическими компаундами. Отличие тяжёлых и лёгких форм АТ наблюдались и по таким клеточным показателям как HP1 γ , SA- β -галактозидаза. Получены интересные данные и по другим наследственным синдромам помимо АТ. Так, синдром Секкеля I типа, как показано в работе, можно диагностировать на основании выявления некоторых сайтов фосфорилирования АТМ и АТР.

Общим выводом из полученных результатов может быть утверждение, что, помимо молекулярно-генетических и клинических, существуют и клеточные маркеры заболевания, изучение которых является перспективным как в прикладном, так и в научном плане.

Основным замечанием к этой главе является характер подачи результатов: много неточностей, перепутаны номера таблиц и рисунков, в некоторых таблицах средние приведены без ошибок (таблица 11, о которой нет упоминания в тексте). Часто таблицы с конкретными данными отсутствуют (приведены только фотографии), потому количественное сравнение сделать невозможно.

В главе Заключение рассматриваются общие вопросы старения, канцерогенеза, их взаимосвязь, обсуждаются генетические и эпигенетические маркеры старения в связи с собственными результатами. Поскольку эти вопросы обсуждались и в главе 3, данный раздел мог бы быть короче.

Последний раздел работы представлен шестью выводами, соответствующими поставленным в работе задачам.

Сделанные замечания носят непринципиальный характер и не снижают общей положительной оценки работы.

Заключение. По актуальности, новизне и объёму проведённых исследований диссертация Миры Леонидовны Курановой «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктозии» является научной квалифицированной работой и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. №842, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присвоения искомой степени по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент – руководитель лаборатории радиационной и онкологической генетики ФГБУ «РНЦРХТ» Минздрава РФ
доктор биологических наук,
профессор



И.Е. Воробцова

Подпись И.Е. Воробцовой заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «РНЦРХТ»
Минздрава РФ



Солурико В.П.

29.12.2014 г.