

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Добровольской Евгении Владимировны «Воздействие факторов разной природы (гипертермии, голодания, окислительного стресса) на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией генов циркадных ритмов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология)

### Актуальность диссертационной работы

Диссертация Е.В. Добровольской посвящена изучению механизмов участия системы циркадных ритмов в адаптации организма к различным экологическим факторам и формировании устойчивости организмов и популяций в экстремальных условиях природной среды. Исследование влияния нарушения работы циркадных часов на продолжительность жизни актуальны не только с теоретической, но и с прикладной точек зрения и особенно для жителей северных широт, где наряду с другими неблагоприятными факторами (перепады температуры, давления, нерегулярно меняющаяся геомагнитная активность) имеют место специфические фотопериодические условия - длительные периоды «полярных» дней и ночей.

Все это свидетельствует об актуальности и чрезвычайной важности исследования Е.В. Добровольской основной целью которого являлось изучение устойчивости *Drosophila melanogaster* к разным факторам окружающей среды (гипертермия, голодание, действие прооксидантов) при сверхэкспрессии генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *Clock*, *cycle*, *timeless*).

### Научная новизна

Впервые в комплексных экспериментах *in vivo* автором доказана роль ключевых генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *Clock*, *cycle*, *timeless*) в обеспечении устойчивости организма к стресс-факторам различной природы – действию прооксиданта параквата, гипертермии, голоданию. Впервые показано, что мутация в гене регулятора циркадных ритмов *cryptochrome* у дрозофил вызывает уменьшение продолжительности жизни. Установлено, что при кондиционной сверхэкспрессии исследуемых генов в мышцах и жировом теле дрозофилы ограничительная диета смягчает ее отрицательные эффекты на продолжительность жизни, связанные с нарушением работы генов регуляции циркадных ритмов.

## **Достоверность основных положений и выводов**

Достоверность рецензируемой работы подтверждена анализом большого экспериментального материала, использованием информативных унифицированных методик, четко поставленными задачами исследования, тщательностью статистической обработки полученных результатов с использованием адекватных методов вариационной статистики. Материалы диссертационного исследования прошли авторитетную верификацию на конференциях различного уровня и были широко представлены автором в научных изданиях.

## **Научно-практическая значимость работы**

Полученные Е.В. Добровольской данные расширяют знания о механизмах работы генов циркадных ритмов в ответе организма *Drosophila melanogaster* на действие нагрузки свободными радикалами (при индукции процесса паракватом), тепловой стресс и голодание. С помощью демографических методов анализа изучена связь между отдельными клеточными процессами и изменением параметров жизнедеятельности организма (продолжительность жизни, стрессоустойчивость). Несомненным практическим результатом является то, что выявленные автором закономерности могут быть учтены при разработке рекомендаций по снижению негативных последствий для здоровья населения светового загрязнения в крупных населенных пунктах, а также «полярного дня» и «полярной ночи» в условиях Крайнего Севера. Наличие ортологов исследуемых генов в геноме млекопитающих и человека позволяет рассматривать их в качестве мишеней для разработки фармакологических и генотерапевтических препаратов, снижающих неблагоприятные последствия искусственного увеличения длины светового дня или нарушения циркадных ритмов у человека.

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе ВУЗов биологического и медицинского профиля.

## **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных результатов, их обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы, содержащего 273 источника публикаций, в том числе 237 публикаций из зарубежных изданий. Работа изложена на 137 страницах машинописного текста и содержит 12 таблиц и 22 рисунка. Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на всесоюзных, всероссийских и международных

конференциях. По материалам диссертации опубликована 21 работа, в том числе пять статей в рецензируемых журналах из списка изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Автореферат полностью отражает содержание работы. Текст диссертации написан хорошим литературным языком, содержит достаточное количество иллюстраций, облегчающих восприятие материала.

### **Вопросы и замечания**

Как и к любой большой работе к диссертации Е.В. Добровольской имеется ряд вопросов и замечаний.

1. Во «Введении», как и других разделах, имеются стилистических погрешности и неудачные выражения. В списке сокращений имеются не все используемые сокращения. В задаче 3 "выявить действие сверхэкспрессии генов циркадных ритмов ...", априори подразумевается, что такое действие есть, а ведь его могло и не быть.

2. Обзор литературы написан конкретно и проанализированные в нем исследования непосредственно связаны с темой диссертации. В цитируемой автором литературе отражена как история вопроса, так и современное состояние изучаемой проблемы. Однако, здесь имеются стилистически неудачные выражения. Например, "В настоящее время большую роль в процессе старения отводится эпигенетике" (с. 15). Не эпигенетике, а эпигенетическим факторам. "Ежедневно при воздействии света (цайтгебера) на структуры, передающие сигнал в СХЯ..." (с. 43). Свет воздействует на глаз, а не на передающие структуры.

3. Глава 2. «Материалы и методы» дает детальное описание объектов исследования и использованных методических приемов по сбору первичной информации. По нашему мнению данная глава, как и вся работа, только выиграла бы если бы здесь была приведена сводная таблица, характеризующая весь объем проделанной работы – дрозофилы каких линий и в каком количестве были использованы в каждой экспериментальной серии. Детальное описание всего этого имеется, однако при этом у читателя не формируется целостное впечатление о том огромном объеме работы, который проделала автор.

4. В главе 3. «Результаты» имеются стилистические погрешности и погрешности в оформлении. Здесь часто встречаются выражения "процент уменьшился" и "процент увеличился". Процент - это одна сотая часть чего-либо и ни уменьшаться, ни увеличиваться он не может. Изменяется доля (часть) чего-либо (в процентах).

На Рис. 5 "Возраст-зависимое изменение экспрессии генов циркадных ритмов..." и других подобных не проводится сравнение между полами? Из подписи к рисунку непонятно, что обозначает треугольник?

Рисунки 10, 15 и таблицы 6, 7, 8, 9, но этот разрыв не оформлен согласно требованиям ГОСТ. То же касается и рис. 2 автореферата.

На с. 70 сказано "выраженность эффектов зависела от пола". На самом деле "выраженность и *направленность* эффектов зависела от пола".

В данной главе автор несколько раз повторяет "Далее полученные данные анализировали методом регрессии Кокса..." с. 74, 77, 80. В таком повторе нет необходимости, поскольку это уже было сказано в методике.

5. Обсуждение проведено квалифицированно с привлечением большого количества источников литературы изданной преимущественно в последнее время. Однако, в Табл. 12. Коэффициенты корреляции посчитаны до 5-6 знака, даже статистически не значимые. Непонятно зачем автор проявила такое усердие? Есть определенные правила и от увеличения знаков значимость не увеличивается.

Закключение и выводы вытекают из изложенного в диссертации материала.

В порядке *дискуссии* хотелось бы обсудить вопрос о том, с чем могли быть связаны обнаруженные автором половые различия (иногда 2-х - 3-х кратные) в экспрессии изучаемых генов.

В целом, сделанные замечания нисколько не влияют на общее хорошее впечатление от рецензируемой работы.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 03.02.08 – экология (биология). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности.

#### **Закключение**

Диссертация Добровольской Евгении Владимировны «Воздействие факторов разной природы (гипертермии, голодания, окислительного стресса) на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией генов циркадных ритмов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология), является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой. По актуальности, поставленным целям и задачам, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости диссертационная работа Е.В. Добровольской полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.,

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.02.08 – экология (биология).

Официальный оппонент,  
Врио директора, г.н.с. лаб. экологической  
физиологии животных ИБ КарНЦ РАН  
д.б.н., доцент

Виктор Александрович Илюха

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии  
Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН)  
ул. Пушкинская, 11  
185910, Петрозаводск, Россия  
Тел. (8124)57-31-07  
E-mail ilyukha@bio.krc.karelia.ru

Подпись В.А. Илюхи удостоверяю  
Ученый секретарь ИБ КарНЦ РАН, к.б.н.

Е.М. Матвеева

185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11  
Тел. (8124)76-09-10  
Факс (8124)76-98-10  
E-mail biology@krc.karelia.ru

03.04.2017 г.