

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу Саргсян Анжелы Ашотовны «Генетические и эпигенетические эффекты ксенобиотиков у биоиндикаторных организмов из различных районов Армении», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 - «Генетика».

Диссертационная работа Анжелы Ашотовны посвящена крайне интересным и до настоящего времени недостаточно исследованным и недооцененным эффектам, возникающим в клетках животных в ответ на действие внешних факторов - ксенобиотиков.

На клеточном уровне признаки нарушения целостности ядра в целом, или же изменения структуры хроматина в частности, представляют большой интерес для широкого круга специалистов. Это связано с проблемой, когда нужно определить является ли процессы разборки/разрушения/модификации хроматина ядра запрограммированными и каким-то образом регламентированными, или же выявляемые нарушения являются скорее "аварийным" и неконтролируемым ответом на воздействия ксенобиотиков. Поэтому поиск модельных систем, надежных маркеров для исследования каждого из таких ответных механизмов, а также выяснение причинно-следственных связей у наблюдаемых каскадов преобразований в клетке - важная задача биологии. Исследования, посвященные маркерным белкам (при апоптозе) или ДНК-белковым комплексам (при модификации хроматина), изменениям состояния мембран - появляются ежегодно. Однако, для любых исследований подобного рода требуются надежные биологические модели, стандартизация протоколов, воспроизводимость результатов.

Несомненно, эффекты, которые регистрируются на уровне клеток при использовании большой выборки, на детально исследованных модельных группах организмов, представляют собой крайне важные результаты, которые заслуживают пристального внимания широкого спектра специалистов.

В этой связи тему диссертационной работы Саргсян Анжелы Ашотовны "Генетические и эпигенетические эффекты ксенобиотиков у биоиндикаторных организмов из различных районов Армении", посвященной изучению методов мониторинга и контроля генетических эффектов загрязнения окружающей среды в Армении на модели животных из разных систематических групп следует признать актуальной и современной.

Целью исследования диссертанта заявлена оценка генетических и эпигенетических показателей у водных и наземных биоиндикаторных организмов на территориях с различным уровнем загрязнения в Армении. Поставленные конкретные задачи адекватны основной цели исследования.

Перейду к критическому анализу текста представленной диссертации.

Диссертационная работа Саргсян Анжелы Ашотовны изложена на 127 страницах и состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения. Представлено 6 выводов. Список литературы

содержит 258 источников. Иллюстративный материал представлен 23 рисунками и 33 таблицами. Диссертация написана хорошим языком, она легко читается.

Обзор литературы.

В обзоре литературы детально и последовательно читатель погружается в суть проблемы. Этот раздел написан достаточно подробно и хорошо. Обсуждаются различные каскады преобразований в клетках в ответ на действие ксенобиотиков. Представлено большое число ссылок на исследования.

Материалы и методы и результаты.

В диссертационной работе представлены результаты исследований на нескольких биологических модельных группах. Стоит отметить разнообразие и таксономическую удаленность исследованных видов животных: раки, улитки, ящерицы и черви. Такое разнообразие объектов исследования, несомненно требовало от диссертанта большой предварительной методической работы по "калибровке" протоколов и выбору реактивов для работы с клетками каждого организма. И действительно, изучив раздел материалы и методы, можно найти эксперименты по модификации растворов для работы с тканями и клетками: для экстракции, мацерации тканей, лизиса или же при инкубации в коктейле ферментов. Отмечу внимание автора к указанию в тексте "материалов и методов" температурного режима при проведении каждой стадии эксперимента. Это показатель внимательности диссертанта и важно для воспроизводимости экспериментов в будущем. Важно отметить, что раздел материалы и методы описан очень детально даже в автореферате, что встречается нечасто. Это также украшает работу.

Отдельный интерес представляют эксперименты с клетками партеногенетических видов рептилий, ящериц рода *Darevskia*. Данные животные из-за однополого размножения и ограничений в мейотической рекомбинации между гомеологичными хромосомами, действительно представляют собой удобную и крайне интересную модель исследования в контексте целей и задач работы диссертанта. Данные полученные диссертантом на модели однополых животных представляют большой научный интерес, поскольку появляется возможность проводить повторные опыты с гораздо большей надежностью, чем на моделях с использованием панмиктических популяций животных.

Так, при исследовании генетически гомогенных партеногенетических ящериц *D. armeniaca*, диссертантом была показана их более высокая чувствительность к локальным загрязнителям почвы, чем у двуполых ящериц *D. raddei*, согласно показателям повреждения и метилирования ДНК.

При этом интересно, что микроядерный тест у ящериц оказался неэффективным биомаркером генотоксичности загрязнителей почвы.

Исследование уровней повреждения ДНК в гемоцитах речных раков *A. leptodactylus*, клетках гемолимфы и гепатопанкреаса улиток *H. lucorum* и эритроцитах ящериц рода *Darevskia* показало, что они соответствуют уровню загрязненности воды и почв в местах их обитания.

Большую чувствительность гепатопанкреаса, чем гемолимфы улиток *H. lucorum* к действию генотоксикантов автор объясняет его функцией детоксикации чужеродных соединений. Мне кажется это логичным объяснением.

Исследование уровней повреждений ДНК в целомицитах дождевых червей из относительно экологически чистых мест обитания показало, что они сопоставимы с результатами, полученными у других видов червей, и могут служить фоновыми показателями при биоиндикации почв в Армении.

Результаты проведенного автором работы исследования чувствительности ящериц рода *Darevskia* к загрязнителям среды не зависит от пола. С увеличением возраста ящериц наблюдается снижение уровня повреждений ДНК. Автор предполагает, что это обусловлено возможной адаптацией к среде и снижением метилирования ДНК, что может быть связано с механизмами старения.

Диссертантом были изучены как генетические, так и эпигенетические параметры у биоиндикаторных организмов коррелируют с содержанием в почве тяжелых металлов. В частности, было выяснено, что метилирование ДНК, наряду с повреждениями ДНК у ящериц является эффективным биомаркером загрязнителей среды, проявляя тенденцию к понижению в более загрязненных участках.

Эпигенетические маркеры коррелируют с более широким кругом металлов, чем повреждения ДНК. Диссертант предполагает, что эпигенетическая регуляция функционирования генома является более чувствительным и тонким механизмом реакции на воздействие среды.

Следующий результат работы диссертанта гласит, что для эффективного выявления широкого спектра генотоксичных загрязнителей почвы необходимо совместное применение нескольких биоиндикаторов и биомаркеров, а также учет возраста биоиндикаторных организмов и ткани, в которой будут определяться повреждения или метилирование ДНК.

Полученные результаты, совершенно справедливо позволяют рекомендовать применение раков *A. leptodactylus*, улиток *H. lucorum* и ящериц рода *Darevskia* в качестве информативных биоиндикаторов и продолжение пилотного исследования дождевых червей *L. terrestris* для оценки загрязнения генотоксикантами окружающей среды в Армении.

В целом, работа выполнена на замечательном научном уровне, и я бы сказал, что методические разработки для модельных групп Армении, являются одной из самых сильных сторон данной диссертации.

В качестве замечаний, хотелось бы отметить следующее:

1. Использование в тексте диссертации сокращений химических элементов вместо слов. В Литературном Обзоре и Результатах, в частности, в таблицах это допустимо и удобно для визуализации данных. Но мне кажется, хотя бы в разделе Заключение, и в автореферате было бы правильнее писать названия металлов словами, дублируя символы в скобках. Все-таки при индексации текстов в базах данных или при поиске по ключевым словам вряд ли используются сокращения.

Хотелось бы услышать от автора уточнения по нескольким вопросам:

1. Каким образом идентифицировали микроядра в эритроцитах ящериц и как их отличали от паразитов крови?
2. Важный момент, отмеченный диссертантом - исследования биомаркеров как «сигналов раннего предупреждения», которые позволяют регистрировать эффекты

ксенобиотиков до проявления физиологических эффектов. Есть ли примеры исследований где сравнивались такие "первичные" и "вторичные" эффекты?

На основе вышеизложенного можно заключить, что диссертационная работа Саргсян А. А. «Генетические и эпигенетические эффекты ксенобиотиков у биоиндикаторных организмов из различных районов Армении» соответствует требованиям ВАК Армении, а сам автор достоин соискания ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 - «Генетика».

Официальный оппонент

зав. лабораторией экспериментальной зоологии
канд. биол. наук. по специальности 03.02.07- «генетика»
Научный Центр Зоологии и Гидроэкологии НАН РА



В.Е. Спангенберг

"Подлинность подпись к.б.н., В.Е. Спангенберга подтверждаю"

Ученый секретарь НИЗГЭ НАН РА



А.Г. Хачатрян

30.12.2024г.