

Заключение диссертационного совета МГУ.014.6
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук
Решение диссертационного совета от «11» сентября 2024 г. № 121

О присуждении Осипову Андрею Андреевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в фибробластах человека: фокусы белков репарации ДНК, пролиферация, аутофагия и старение» по специальности 1.5.1. Радиобиология (биологические науки) принята к защите диссертационным советом «26» июня 2024 г., протокол № 116.

Соискатель Осипов Андрей Андреевич 1996 года рождения, в 2020 году окончил магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России) по специальности «Биология». В том же году Осипов А.А. поступил в аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН) по специальности 1.5.2. – биофизика и является в настоящий момент аспирантом 4 года обучения.

Соискатель работает научным сотрудником в группе радиационной биохимии нуклеиновых кислот отдела динамики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в отделе динамики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

Научный руководитель – **Осипов Андреев Николаевич**, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий отделом экспериментальной радиобиологии и радиационной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, руководитель группы радиационной биохимии нуклеиновых кислот Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Замулаева Ирина Александровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом радиационной биохимии и лабораторией пострадиационного восстановления Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба филиала Федерального государственного

бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России;

Васильев Станислав Анатольевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории инструментальной геномики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»;

Попова Нелли Рустамовна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник с возложением обязанностей заведующей лабораторией изотопных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук –

дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что Ирина Александровна Замулаева является признанным в РФ и за рубежом специалистом в таких областях как: клеточная радиобиология, радиобиологические основы лучевой терапии, соматический мутагенез; Станислав Анатольевич Васильев является ведущим специалистом в области молекулярной радиобиологии и генетики и обладает высокой компетенцией в вопросах исследования фокусов белков репарации ДНК; Нелли Рустамовна Попова является специалистом по вопросам радиационной онкологии, ядерной медицины и радиационной защиты. Публикации официальных оппонентов близки по своей направленности к теме рассматриваемой диссертационной работы.

Соискатель имеет 22 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации 4 работы, из которых 4 статьи, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.1. Радиобиология (биологические науки).

1. **Osipov A.A.** Residual Foci of DNA Damage Response Proteins in Relation to Cellular Senescence and Autophagy in X-Ray Irradiated Fibroblasts. / **A.A. Osipov**, A. Chigasova, E. Yashkina, M. Ignatov, Y. Fedotov, D. Molodtsova, N. Vorobyeva, A.N. Osipov // *Cells*. 2023. V. 12. № 8. pii:1209 (P. 1-19). doi:10.3390/cells12081209 (WoS, JIF 6,0; **Q1**; 2.2 п.л./80%).

2. Belov O. Dose-Dependent Shift in Relative Contribution of Homologous Recombination to DNA Repair after Low-LET Ionizing Radiation Exposure: Empirical Evidence and Numerical Simulation. / O. Belov, A. Chigasova, M. Pustovalova, **A.A. Osipov**, P. Eremin, N. Vorobyeva, A.N. Osipov // *Current Issues in Molecular Biology*. 2023. V. 45. № 9. P. 7352-7373. doi:10.3390/cimb45090465 (WoS, JIF 3,1; **Q2**; 2.5 п.л./40%).

3. Воробьева Н.Ю. Изменения количества остаточных фокусов γ H2AX в Ki-67-позитивных и Ki-67-негативных фибробластах человека, облученных рентгеновским излучением в дозах 2-10 Гр. / Н.Ю. Воробьева, **A.A. Осипов**, А.К. Чигасова, Е.И. Яшкина, А.Н. Осипов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023. Т. 175. № 4. С. 446-450. (ИФ РИНЦ 1,002, 0.5 п.л./70%) doi: 10.47056/0365-9615-2023-175-4-446-450 (Vorobyeva N.Y. Changes in the Number of Residual γ H2AX Foci in Ki-67-Positive and Ki-67-Negative Human Fibroblasts Irradiated with X-Rays in Doses of 2-10 Gy. / N.Y. Vorobyeva, **A.A. Osipov**, A.K. Chigasova, E.I. Yashkina, A.N. Osipov //

Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2023. V. 175. № 4. P. 450-453. doi: 10.1007/s10517-023-05883-2) (WoS, JIF 0,7; **Q3**; 0.5 п.л./70%).

4. **Осипов А.А.** Связь между клеточным старением и изменениями количества и размеров фокусов фосфорилированного гистона H2AX в облученных фибробластах человека. / **А.А. Осипов**, А.К. Чигасова, Е.И. Яшкина, М.А. Игнатов, Н.Ю. Воробьева, А.Н. Осипов // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 13–18. (ИФ РИНЦ 0,359, 0.7 п.л./80%) doi:10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18 (**Osipov A.A.** Link Between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2ax Foci in Irradiated Human Fibroblasts. **A.A. Osipov**, A.K. Chigasova, E.I. Yashkina, M.A. Ignatov, N.Yu. Vorobyeva, A.N. Osipov // Medical Radiology and Radiation Safety. 2024. V. 69 № 3. P. 13–18.) (Scopus, SJR 0,18; **Q4**; 0.7 п.л./80%).

На автореферат поступило 6 дополнительных отзывов, все положительные.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решены вопросы, имеющие значение для развития радиобиологии: **1.** Впервые проведено одновременное исследование зависимостей доза-эффект и пострадиационных изменений (от 0,5 до 72 ч) количества фокусов белков, представляющих основные функциональные классы белков DDR (γ H2AX (сенсор), pATM (трансдуктор), 53BP1 (медиатор), p-p53(Ser15) (эффектор)), в фибробластах дермы кожи человека, облучённых рентгеновским излучением в широком интервале доз (от 0,1 до 5(10) Гр). Показано, что дозовые зависимости изменений количества фокусов всех изученных белков в фибробластах человека через 0,5 и 4 ч после воздействия рентгеновского излучения в дозах 0,1-5 Гр характеризуются линейным участком при дозах до 1 Гр, после чего наблюдается эффект «насыщения». Продемонстрировано, что в соответствии с количественным выходом остаточных фокусов (24-72 ч после облучения), исследуемые белки могут быть расположены в порядке убывания: γ H2AX > 53BP1 > pATM \geq p-p53(Ser-15); **2.** Впервые определены пороговые дозы для остаточных фокусов γ H2AX и 53BP1 через 48 и 72 ч после облучения клеток и доказано, что они близки к полученной на тех же клетках квазипороговой дозе Dq, характеризующей ширину плечевой области, где возможно восстановление облучённых клеток, на кривой клоногенной выживаемости клеток; **3.** Впервые выполнен анализ взаимосвязи между остаточными фокусами белков репарации ДНК, пролиферативной активностью, а также долей β -галактозидаза позитивных, каспаза-3 позитивных и LC3-II позитивных (аутофагических) клеток в популяциях облучённых фибробластов. Продемонстрировано, что старение и аутофагия в популяциях облучённых фибробластов действуют как партнеры, усиливая друг друга и снижая долю клеток позитивных по апоптотической эффекторной каспазе-3. Показано существование дозового порога для формирования отдаленных молекулярных и клеточных эффектов в фибробластах, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения; **4.** Впервые обнаружено, что после облучения в дозе 5 Гр при пассировании до 5 пассажа клеток наблюдалось стойкое сохранение повышенного количества фокусов белков репарации ДНК, сопровождающееся низкой пролиферативной активностью и высокой долей β -галактозидаза позитивных и аутофагических клеток. После облучения в дозе 2 Гр

отдаленные негативные эффекты облучения, ассоциированные с клеточным старением, были обнаружены только на 15 пассаже после облучения. Продемонстрировано, что воздействие рентгеновского излучения в малой дозе (0,1 Гр) на культивируемые фибробласты дермы кожи человека не приводит к увеличению количества фокусов белков репарации ДНК, снижению пролиферативной активности и преждевременному старению на 5, 10 и 15 пассажах после облучения.

Практическая значимость работы Осипова А.А. заключается в следующем: **1.** Результаты исследования представляют особый интерес для моделирования и прогнозирования побочных эффектов облучения при лучевой диагностике и терапии. Детальное понимание механизмов формирования ранних и отдаленных молекулярных и клеточных эффектов в фибробластах человека необходимо для идентификации молекулярных мишеней, разработки стратегий радиационной защиты клеток нормальных тканей в процессе лучевой терапии и уточнения предельно допустимых дозовых нагрузок; **2.** Полученные результаты могут быть востребованы в качестве референтных при исследовании молекулярных и клеточных эффектов ионизирующих излучений с различными физическими излучениями (протоны, нейтроны, тяжёлые ионы), разработке новых технологий лучевой терапии и в космической радиобиологии; **3.** Полученные в работе зависимости «доза-эффект» также могут быть учтены при совершенствовании радиационной биодозиметрии.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. **Положения, выносимые на защиту**, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку: **1.** По количественному выходу фокусов белков репарации ДНК (в пересчёте на единицу поглощенной дозы) в культивируемых фибробластах дермы кожи человека через 0,5 и 24-72 ч после воздействия рентгеновского излучения исследуемые белки располагаются в порядке убывания: $\gamma\text{H2AX} > 53\text{BP1} > \text{pATM} \geq \text{p-p53(Ser-15)}$; **2.** Дозозависимое увеличение количества остаточных (через 24-72 ч после облучения) фокусов γH2AX , 53BP1 pATM и p-p53(Ser-15) в культивируемых фибробластах дермы кожи человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения, ассоциировано со снижением пролиферативной активности и увеличением доли LC3-II и β -галактозидаза позитивных клеток; **3.** Пороговые значения остаточных фокусов γH2AX и 53BP1 в культивируемых фибробластах дермы кожи человека через 48 и 72 ч после облучения рентгеновским излучением могут рассматриваться в качестве одного из прогностических критериев радиационно-индуцированной репродуктивной гибели клеток; **4.** Воздействие рентгеновского излучения в малой дозе (0,1 Гр) не вызывает увеличения количества фокусов белков репарации ДНК, а также не приводит к снижению пролиферативной активности и преждевременному старению в потомках культивируемых облучённых фибробластов дермы кожи человека на 5, 10 и 15 клеточных пассажах после облучения.

Личный вклад автора заключался в непосредственном участии в планировании и проведении всех экспериментов, обработке, анализе и интерпретации полученных данных,

написании статей и тезисов. Большая часть экспериментального исследования выполнена автором лично.

На заседании «11» сентября 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Осипову Андрею Андреевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.1. Радиобиология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав, проголосовали: за – 19 против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Зам. председателя диссертационного совета,

доктор физико-математических наук

_____/Пресняков И.А./

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат химических наук

_____/Северин А.В./

«11» сентября 2024 г.