

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Осипова Андрея Андреевича
на тему: «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского
излучения в фибробластах человека: фокусы белков репарации ДНК,
пролиферация, аутофагия и старение»
по специальности 1.5.1. Радиобиология**

Взаимодействие и взаимообусловленность эффектов ионизирующего излучения на различных уровнях организации клеток остается важной проблемой радиобиологии и радиационной генетики. Исследованию этих актуальных вопросов посвящено диссертационное исследование Осипова Андрея Андреевича на тему: «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в фибробластах человека: фокусы белков репарации ДНК, пролиферация, аутофагия и старение» по специальности 1.5.1. Радиобиология.

Структура диссертационной работы. Диссертация оформлена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 146 страницах, содержит 33 рисунка и 6 таблиц. Список цитируемой литературы включает 295 источников.

Во **Введении** обосновывается актуальность исследования, формулируется цель и задачи диссертационной работы, указывается ее научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Центральной идеей работы явилось комплексное исследование молекулярных и клеточных эффектов ионизирующего излучения в различных дозах как в облученных фибробластах кожи, так и в их потомках.

Реализация идеи, лежащей в основе исследования, потребовала решения задач, сфокусированных на анализе зависимостей доза-эффект для фокусов белков репарации ДНК на коротких сроках после воздействия и

остаточных фокусов белков репарации ДНК; характеристике взаимосвязи между остаточными фокусами белков репарации ДНК и пролиферативной активностью, клоногенной выживаемостью облучённых клеток, долей β -галактозидаза-, каспаза-3- и LC3-II-позитивных клеток; исследованию молекулярных и клеточных эффектов в потомках облученных клеток вплоть до 15 клеточного пассажа. По итогам проведенных исследований автором сформулировано 4 положения, выносимых на защиту, обоснованность и достоверность которых подтверждается существенным объемом полученных и проанализированных экспериментальных данных.

Глава **«Обзор литературы»** содержит исчерпывающий анализ источников литературы, касающихся роли выбранной модельной системы (фибробластов кожи) в патогенезе лучевых поражений, механизмов клеточного ответа на образование двунитевых разрывов ДНК. Большое внимание уделено рассмотрению взаимосвязи между молекулярными и клеточными эффектами ионизирующего излучения.

Глава **«Материалы и методы»** содержит информацию о материале и использованных клеточных, иммунологических и статистических методах. Подробно описаны использованные клеточные линии, методы обработки материала, условия проведения радиационного воздействия и анализа результатов. Обращает на себя внимание использование в анализе большого числа таргетных белков, образующих фокусы белков репарации двунитевых разрывов ДНК. Статистические методы адекватны и не вызывают сомнений в значимости полученных результатов.

Глава **«Результаты»** представляет собой центральный раздел диссертационного исследования. В работе получены результаты, обладающие высокой степенью научной новизны, фундаментальной и практической значимостью. В частности, впервые в рамках одних и тех же экспериментов получены дозовые зависимости фокусов большого числа белков, представляющих основные функциональные классы в процессе ответа на двунитевые разрывы ДНК. Как и в других работах, обнаружен

эффект «насыщения» числа фокусов большинства использованных белков с увеличением дозы ионизирующего излучения. Обнаружены и оценены пороговые дозы для остаточных белков репарации двунитевых разрывов ДНК, доказано, что они близки к полученной на тех же клетках квазипороговой дозе D_q , характеризующей ширину плечевой области, где возможно восстановление облучённых клеток, на кривой клоногенной выживаемости клеток. Обнаружена взаимосвязь между остаточными фокусами белков репарации двунитевых разрывов ДНК и клеточными эффектами ионизирующего излучения, в частности, пролиферативной активностью, долей β -галактозидаза-, каспаза-3- и LC3-II-позитивных клеток. Обсуждение результатов вынесено в отдельную главу 4 «Обсуждение», в которой проведен анализ взаимосвязей и взаимообусловленностей различных фиксируемых эффектов ионизирующего излучения. На основе полученных результатов сформулировано 6 обоснованных выводов.

К работе имеются некоторые замечания и вопросы:

1. В таблице 6 приведены результаты корреляционного анализа для различных проанализированных маркеров. Сколько отдельных точек в статистическом анализе было в каждом случае? Если в анализе использовались результаты, полученные для различных доз ионизирующего излучения, то наблюдаемая корреляция в большей степени является следствием дозовой зависимости эффектов, а не их взаимосвязи между собой.
2. Глава 3.4 называется «Связь остаточных фокусов белков репарации ДНК с клоногенной выживаемостью». Однако в ней приведена лишь полученная зависимость клоногенной выживаемости фибробластов человека от дозы ионизирующего излучения и никак не обсуждается ее связь с числом остаточных фокусов белков репарации ДНК. Однако анализ этих результатов вынесен в главу 4 «Обсуждение». Такое изложение материала несколько затрудняет понимание результатов.

3. Обычно считается, что повышенный уровень остаточных фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК приводит к активации контрольных точек клеточного цикла и блокирует пролиферацию клеток. Чем тогда может объясняться меньшее число остаточных фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК в покоящихся клетках по сравнению с общей клеточной популяцией?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

В связи с вышеизложенным можно заключить, что диссертация Осипова Андрея Андреевича на тему «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в фибробластах человека: фокусы белков репарации ДНК, пролиферация, аутофагия и старение» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной проблемы – комплексного анализа молекулярных и клеточных эффектов мутагенеза в культуре фибробластов кожи при воздействии ионизирующего излучения, что имеет существенное значение для развития радиобиологии. Диссертация соответствует специальности 1.5.1. Радиобиология, а именно следующим ее направлениям: «Механизмы формирования клеточных, молекулярных, генетических изменений в клетках млекопитающих и человека при действии различных видов излучений с разными физическими характеристиками», «Радиационная генетика. Влияние ионизирующих излучений на геном, механизмы репарации ДНК; отдаленные последствия действия ионизирующих излучений на геном растений и животных».

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.1. Радиобиология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в

Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Осипов Андрей Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология.

Официальный оппонент:

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»
Васильев Станислав Анатольевич


22.08.2024

Контактные данные:

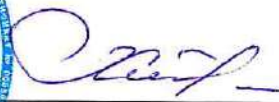
тел.: +7(909)5454996, e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 1.5.7. Генетика

Адрес места работы:

634050, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
Научно-исследовательский институт медицинской генетики
Тел.: +7 (3822) 513146; e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Подпись д-ра биол. наук С.А. Васильева удостоверяю
Ученый секретарь Федерального
государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»
кандидат биологических наук
Хитринская Ирина Юрьевна



22.08.2024