

ОТЗЫВ
официального оппонента
о диссертации на соискание 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

Диссертационная работа Осипова Андрея Андреевича представляет собой детальное исследование, посвященное анализу дозовых зависимостей и взаимосвязи между изменением количества фокусов ключевых белков механизма ответа клетки на повреждение ДНК и фракциями покоящихся, β -галактозидаза, каспазо-3 и LC3-II позитивных клеток в популяциях фибробластов дермы кожи человека в ранний и отдаленный периоды после воздействия на них рентгеновского излучения в дозах от 0,1 до 5(10) Гр.

Актуальность темы исследования:

Известно, что во время проведения радиологических диагностических и терапевтических процедур воздействию рентгеновского излучения подвергаются все виды клеток в зоне воздействия. Большое количество исследований в последнее время посвящено оценке радиочувствительности трансформированных клеток, в то время как актуальным остается проведение исследований по изучению формирования ранних и отдаленных молекулярных и клеточных эффектов в нормальных клетках. Понимание закономерностей и механизмов формирования таких эффектов необходимо для разработки стратегий радиационной защиты нормальных тканей. Диссертационная работа А.А. Осипова посвящена оценке влияния рентгеновского излучения в малых и больших дозах на формирование ранних и отдаленных клеточных эффектов *in vitro*.

Общая характеристика содержания работы:

Автором проведен широкий литературный обзор материалов, дающий полное представление о поставленной цели и проведена большая экспериментальная работа. Данная работа представляет собой надлежаще оформленные и доступно представленные результаты исследований, которые определенно имеют научную и практическую ценность для научного сообщества.

Диссертационная работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 6 таблиц, 33 рисунка и включает следующие главы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Список сокращений, а также Список литературы из 295 источников.

Апробация работы:

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ и индексируемых Web of Science Scopus, 8 тезисов конференций. Апробация результатов полностью отражает содержание и основные научно-практические положения диссертационной работы.

Научная новизна диссертационной работы:

В представленной А.А. Осиповым диссертационном исследовании продемонстрированы важные аспекты, затрагивающие молекулярные механизмы ответа фибробластов различных пассажей на действие ионизирующего излучения в широком диапазоне доз. В частности, автором проведен комплексный анализ сразу нескольких маркеров процесса репарации двунитевых разрывов ДНК, которые хорошо обозначены во времени и степени активации. Выявленные эффекты дополнительно подтверждены иными методами метаболической активности облученных клеток, включая маркеры старения, пролиферативной активности, апоптоза и аутофагии. При этом проведенный детальный анализ выявил положительную корреляцию практически по всем изученным параметрам. Также стоит отметить предложенный автором кластерный анализ, который наглядно демонстрирует

иерархию клеточного ответа на индуцированные повреждения (Рисунок 10 Автореферата) и хорошо визуализирует полученные данные.

Практическая и теоретическая значимость работы:

В диссертационной работе присутствует практическая и теоретическая значимость. В частности, автором было отмечено, что разработанная схема анализа может лечь в основу создания методики прогноза дозовой нагрузки на здоровые ткани у пациентов, проходящих курс лучевой терапии, с чем можно согласиться. Также автором концептуально грамотно выстроена методическая часть комплексного анализа влияния излучения на клетки, которая позволяет максимально полно оценить эффекты повреждений ДНК и развившихся последствий на клеточном уровне. Такая схема может быть успешно использована в том числе для поиска и первичного скрининга потенциальных радиомодификаторов.

Достоверность полученных решений, выводов и рекомендаций:

Положения, сформулированные в диссертационной работе А.А. Осипова, основаны на большом объеме данных, обработаны с использованием современных статистических методов анализа, и не вызывают сомнений в достоверности.

Обзор литературы:

Данный раздел содержит большой объем хорошо изложенной информации, затрагивающей вопросы роли фибробластов в патогенезе лучевых поражений, клеточного отклика на образование двунитевых разрывов ДНК. Автор провел ретроспективный и перспективный анализ использования фокусов белка репарации ДНК в радиобиологических исследованиях, а также анализ влияния ионизирующего излучения на клеточную гибель и старение.

Материалы и методы:

В данном разделе автором представлен широкий набор современных методов исследования, который в сжатой, но достаточно информативной форме раскрывает информацию о проделанной экспериментальной части работы.

Результаты исследования и обсуждения:

В данном разделе автором были изложены данные исследования в сопровождении с обсуждениями, которые дают исчерпывающее понимание наблюдаемых эффектов. Стоит отметить выполненные автором корреляционный и кластерный анализы с построением иерархического кластерного дерева, которое наглядно демонстрирует развитие клеточного ответа на облучение через 24-72 ч после облучения фибробластов в диапазоне доз 0,1-10 Гр.

Выводы:

Основные выводы, представленные в диссертационной работе, являются результатом анализа проделанной работы и дают четкое представление о проделанной работе.

При общей положительной оценке работы, в ходе ознакомления с диссертационной работой Осипова Андрея Андреевича мной были отмечены некоторые комментарии, которые направлены на улучшение качества работы.

Замечания по диссертационной работе:

1. В работе встречаются неточности стилистического характера и небольшие опечатки.
2. В работе нет четкого изложения, чем обусловлен выбор количества пассирований клеток (до 15 клеточного пассажа) при исследовании молекулярных и клеточных эффектов в потомках клеток после облучения, а также выбор исследуемого диапазона доз (от 0,1 до 10 Гр).

3. Несмотря на то, что бета-галактозидаза (SA- β -Gal) ассоциированная со старением является общепринятый и широко используемым маркером, нельзя в полной мере говорить о том, что это ключевой и четко детерминированный маркер старения, поскольку активность бета-галактозидазы часто зависит не столько от «возраста» клеток, сколько от метода исследования и, что особенно важно, от пролиферативного статуса изучаемых клеток. Таким образом, может ли радиационно-индуцированное снижение пролиферативной активности в «молодых» клетках, например, в 5 пассаже, являться причиной повышенной доли бета-галактозидазы позитивных клеток?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. На основании изложенного считаю, что диссертационная работа «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в фибробластах человека: фокусы белков репарации ДНК, пролиферация, аутофагия и старение» Осипова Андрея Андреевича 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.

кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник с
возложением обязанностей
заведующей лабораторией
изотопных исследований Института
теоретической и экспериментальной
биофизики Российской академии
наук (ИТЭБ РАН)

10/10/2019

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
03.01.01 – Радиобиология

popovanr@iteb.pushchino.ru

Ученый секретарь ИТЭБ РАН
кандидат биологических наук

20.08.2024

Т.А. Перевязова

