

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУН УНПЦ РМ

ФМБА России

А. В. Аклеев

09 2023 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России на диссертационную работу Абдуллаева Серажутдина Абдуллаевича «Пострадиационные механизмы функционирования и стабилизации митохондриального генома», представляемой на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология.

Актуальность темы выполненного исследования

Исследования структурно-функциональных нарушений генома в клетках человека после радиационного воздействия, как правило, ограничиваются оценкой повреждения ядерной ДНК (ядНК). Однако известно, что в клетках млекопитающих кроме ядНК содержится множество копий митохондриальной ДНК (мтДНК). При этом в связи с особенностью организации (отсутствие нуклеосомного уровня, менее эффективная система репарации) мтДНК является более уязвимой мишенью, по сравнению с ядНК, для повреждающих агентов, в том числе ионизирующей радиации. Кроме того, для нее характерна повышенная мутабильность, благодаря повреждениям, индуцируемым активными формами кислорода, генерируемыми в самих митохондриях, и ошибками репликативного синтеза. Наряду с этим в мтДНК находятся гены, кодирующие ферменты, выполняющие важную энергетическую функцию. Стабильность и сохранение митохондриального генома, изменение количества копий мтДНК

Согласован отложением 20.09.2023г.

Абдуллаев С.А.

ВОДОРОДНЫХ ГЕНЕВ	1695
ДАТА	18 сентября 2023
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	1
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ	
им. А.И. Бурназяна ФМБА России	

мтДНК) в клетках играют важную роль в адаптации человека к различным условиям внешней среды.

Радиационно-индуцированное нарушение энергетического метаболизма играет важную роль в развитии как ранних, так и отдаленных эффектов. С нарушениями мтДНК ассоциируются широкий спектр заболеваний, ослабление функций тканей, нарушения иммунной системы, развитие опухолевых патологий.

Однако сведения по радиационному мутагенезу мтДНК в клетках человека или животных, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения, в литературе ограничены и противоречивы.

В связи с этим исследование возникновения, аккумуляции мутантных копий мтДНК и изменения количественного содержания копий мтДНК в клетках тканей организма млекопитающих, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения, представляется актуальным и востребованным.

Научная новизна

Впервые показано, что активность репарации яДНК, синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий, а также модуляция экспрессии генов поддержки митохондрий, различны в гиппокампе, коре и мозжечке крыс после их облучения, что связано с различиями в радиочувствительности тканей.

Впервые установлено, что в клетках тканей (головной мозг, селезенка) мышей, подвергнутых воздействию разных доз рентгеновского излучения, резко возрастает уровень мутантных копий мтДНК с максимумом на 8-й день после облучения с последующим снижением их содержания к 28-му дню пострадиационного времени. Образование мутантных копий мтДНК в тканях головного мозга и селезенки облученных мышей, как и мутагенез ядерных генов, имеет линейную зависимость от дозы рентгеновского излучения (в пределах 1-5 Гр).

Впервые установлено, что в кровоток облученных мышей в течение пострадиационного периода поступает большое количество циркулирующей

вк-мтДНК, существенная часть которой представлена мутантными копиями. Уровень вк-мтДНК с мутациями в плазме крови мышей зависит от дозы излучения. Динамика изменения общего содержания циркулирующей вк-мтДНК и уровня ее мутантных копий в плазме облученных мышей отличается от таковой в тканях селезенки и мозга этих же животных.

Впервые показана возможность преодоления трансренального (почечного) барьера и перехода в мочу вк-мтДНК, наряду с вк-ядНК, у животных после воздействия рентгеновского излучения, а также после введения блеомицина. Обнаружена дозовая зависимость выявленных эффектов.

В работе показано, что последствия радиационного воздействия можно снизить путем введения экзогенного мелатонина до и после радиационного воздействия. Мелатонин эффективнее проявляет радиозащитные свойства как радиомитигатор.

Таким образом, полученные результаты являются уникальными и привносят принципиально новые сведения о роли мтДНК в развитии радиационно-индукционного ответа организма на облучение, а также о возможности использования такого критерия как уровень мтДНК в биологических жидкостях в качестве потенциального неинвазивного биомаркера оценки радиационного поражения и воздействия других генотоксических агентов на организм.

Теоретическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных по формированию радиационного мутагенеза мтДНК и изменению уровней мутантных копий мтДНК в тканях облученных животных в пострадиационном периоде.

Практическая значимость

Полученные результаты и использованные методические подходы внедрены в учебную деятельность ФГБОУ Пущинского 11 государственного естественно-научного института и Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна».

На основе результатов диссертационной работы по изменению уровня общего количества фрагментов вк-ядНК и вк-мтДНК, а также увеличения содержания мутантных копий вк-мтДНК в плазме и моче облученных животных могут быть разработаны тест-системы для оценки клеточной гибели при действии радиации и других генотоксичных агентов, а также оценки эффективности противолучевых средств. Такие тест-системы могут быть востребованы в учреждениях Федерального медико-биологического агентства, а также других учреждений, осуществляющих медицинское обеспечение работников предприятий атомной промышленности и ядерной энергетики и лиц, подвергшегося радиационному воздействию.

Основные результаты и их достоверность

Целью диссертационной работы Абдуллаева С.А. являлось исследование повреждения и восстановления мтДНК, наряду с яДНК, в различающихся по радиочувствительности тканях облученных животных, а также выяснение особенностей циркуляции внеклеточных ДНК (вк-ДНК) в биологических жидкостях в пострадиационном периоде, с целью использования их в качестве неинвазивных биомаркеров оценки ответа организма на облучение и воздействие других генотоксических агентов, а также для оценки эффективности противолучевых средств.

В рамках работы были исследованы особенности восстановления мтДНК и репарации яДНК, а также оценена экспрессия генов, участвующих в окислительном фосфорилировании, регуляции биогенеза, и динамика митохондрий в трех участках головного мозга крыс (гиппокамп, кора больших

полушарий, мозжечок) после облучения рентгеновскими лучами в разных дозах.

Автором было показано, что наличие в структурах головного мозга крыс повышенного уровня мутантных копий mtДНК (гетероплазмия) с одновременной активацией ее общего синтеза после радиационного воздействия, приводит к нарушению экспрессии генов, регулирующих синтез АТФ, усилию пролонгированного окислительного стресса в митохондриях и к их дисфункции.

Абдуллаев С. А. исследовал общее количество фрагментов mtДНК, а также долю мутированных копий mtДНК в тканях мозга и селезенки мышей в зависимости от дозы облучения и длительности пострadiационного периода (1-28 дней) и пришел к заключению, что мутагенез mtДНК в тканях головного мозга и селезенки облученных мышей, как и мутагенез ядерных генов, имеет линейную зависимость от дозы рентгеновского излучения (в пределах 1-5 Гр).

Кроме того, соискателем было показано, что повышенное содержание мутантных копий вк-мтДНК и увеличение общей вк-мтДНК в плазме облученных животных зависит от дозы рентгеновского излучения и длительности пострadiационного периода.

В своей работе Абдуллаев С. А. делает заключение, что введение экзогенного мелатонина до и после облучения способствует пострadiационной выживаемости животных, активации репарации ДНК и снижению митохондриальной дисфункции в тканях коры головного мозга и селезенки.

Достоверность полученных результатов обеспечивается научно-обоснованным выбором методов статистического анализа данных, необходимым количеством повторных исследований, а также использованием современных методик, высококачественных расходных материалов и высокотехнологичного оборудования. Результаты диссертационной работы были доложены и представлены на отечественных и международных конференциях, а также опубликованы в рецензируемых изданиях.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа представлена на 213 страницах машинописного текста и имеет классическую для диссертации структуру, включая в себя введение, три главы (литературный обзор, материалы и методы, результаты и обсуждения), выводы, список сокращений, список литературы, состоящего из 443 источников и два приложения. Работа проиллюстрирована 35 рисунками и содержит 3 таблицы.

В введении кратко представлена актуальность темы исследования, сформулированы цель, задачи исследования и научные положения, научная новизна и практическая значимость работы. Научные положения, выносимые на защиту, логично вытекают из полученных данных. Цель исследования корректно сформулирована, а задачи полностью соответствуют поставленной цели.

В обзоре литературы полно и всесторонне проанализировано современное состояние исследований в области молекулярной радиобиологии. Подробно представлена роль мтДНК в стабильности и функционировании клеток млекопитающих после облучения. Рассмотрены вопросы о влиянии ионизирующего излучения на мтДНК. На основе этого соискателем было выбрано направление собственной работы, объект и объект исследования, а также корректные методы исследования.

Методический уровень работы соответствует мировому уровню по использованию современных технологий, объектов исследования и методов статистического анализа данных. Исследование проводилось в соответствии с требованиями этических положений.

В работе получен большой объем экспериментальных данных о закономерностях повреждения и восстановления мтДНК (в том числе яДНК) в различных по радиочувствительности тканях обученных животных, изменения относительного содержания мРНК генов, участвующих в

окислительном фосфорилировании, регуляции биогенеза и динамики митохондрий в различных тканях и структурах головного мозга крыс.

Результаты исследования представлены в шести подразделах, изложены логично и проиллюстрированы 31 рисунком.

В заключительной главе соискатель дает подробный анализ полученных данных, сравнивает их с уже имеющимися данными литературы и обсуждает теоретическую и практическую значимость результатов проделанной работы. Обсуждение результатов выполнено на основании современных представлений по изучаемой проблеме, в списке использованной литературы представлены свежие зарубежные и российские источники научной информации.

Сделанные выводы полностью соответствуют результатам исследования и отвечают на поставленные в диссертационной работе задачи.

Автореферат имеет традиционную структуру, содержит все необходимые разделы и отражает основные результаты диссертационной работы.

По теме диссертационной работы опубликовано 55 печатных работ, из которых – 18 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

Замечания

Принципиальных замечаний к работе нет. Работа написана ясно, хорошо структурирована и иллюстрирована. Тем не менее имеется ряд замечаний, преимущественно редакционного характера.

1. На стр. 76 в таблице 2 указано «Праймеры для анализа экспрессии генов мРНК», корректнее было бы «Праймеры для анализа экспрессии мРНК генов» или «Праймеры для количественного анализа мРНК генов».
2. На стр. 87 рисунок 4 и рисунке 24 (стр. 123), по оси ординат указано «ПЦР амплификация (%). ПЦР амплификация не может быть показателем, это процесс, корректно было бы «Продукты ПЦР амплификации».

3. Из материалов и методов не ясно выдерживались ли контрольные животные (не облученный контроль) в тех же условиях (в пластиковых контейнерах по 5 животных в рентгеновской установке) но, без облучения.
4. Не совсем корректно сформулированы ряд выражений и терминов, например, «Х-лучи»; «антирадиационный потенциал».
5. В разделе «3.4. Исследование содержания вк-мтДНК и вк-яДНК в моче крыс, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения и цитостатического препарата блеомицина» представлены результаты изменения содержания вк-мтДНК и вк-яДНК в моче крыс, после облучения в дозах 3 и 5 Гр, а также собранные до и после облучения в дозах 3, 5 и 8 Гр в разные сроки. Однако из текста не понятно в данном случае животные подвергались общему рентгеновскому облучению или краинальному облучению протонами.

Перечисленные замечания относятся к оформлению выполненной работы и не снижают ее общей ценности.

Заключение

Диссертация Абдулаева Серажутдина Абдулаевича на тему «Пострадиационные механизмы функционирования и стабилизации митохондриального генома», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы возникновения повреждений и восстановления мтДНК и яДНК в различающихся по радиочувствительности тканях организма при однократном облучении в разные пострадиационные периоды. Полученные результаты можно квалифицировать как научное достижение в области молекулярной радиобиологии, которые имеют важное значение для разработки неинвазивных биомаркеров ответа организма на облучение и эффективности противолучевых средств.

По актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в редакции постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Абдуллаев С.А., достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, протокол № 8 от 30 августа 2023 г.

Отзыв подготовил:

Заведующий лабораторией молекулярно-клеточной радиобиологии
ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины»,
кандидат биологических наук Блинова Евгения Андреевна,
454048, Челябинск, ул. Воровского, д. 68а, тел.: (351) 232-79-14
E-mail: blinova@urcrm.ru

Е.А. Блинова

Подпись к.б.н. Е.А. Блиновой
удостоверяю

Ученый секретарь ФГБУН «УНГЦ РКБФМБА России,
к.б.н.,



С.А. Больщакова

«04» сентября 2023

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Уральский научно-практический центр радиационной медицины

Федерального медико-биологического агентства»

454141, г. Челябинск, ул. Воровского, 68А

Тел.: 8 (351)232-79-14, E-mail: urcrm@urcrm.ru