

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ФГБУ ГНЦ ФМБЦ
им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
д.м.н., профессор РАН

Самойлов А.С.

« 01 » февраля 2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального государственного бюджетного учреждения
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И.
Бурназяна»**

Диссертация Греховой Анны Константиновны на тему: «Особенности образования и репарации двунитевых разрывов ДНК в фибробластах кожи человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых и средних дозах» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология выполнена на базе отдела Экспериментальной радиобиологии и радиационной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» и лаборатории Количественной онкологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

С 2010 по 2017 гг. соискатель Грехова Анна Константиновна работала в должности младшего научного сотрудника, а с 2017 г. по настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории Количественной

онкологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук. Также с 2014 г. по настоящее время работает по совместительству в должности младшего научного сотрудника лаборатории Радиационной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна».

В 2010 г. окончила Московскую государственную академию ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина, ветеринарно-биологический факультет, по специальности «Биофизика».

Кандидатские экзамены сданы.

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (протокол №31 от 24 мая 2018 г.).

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 имени А. И. Бурназяна».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что по-прежнему отсутствует единая точка зрения о биологических эффектах, вызываемых облучением в малых (менее 100 мГр) и средних (от 100 до 1000 мГр) дозах. С одной стороны, среди полезных, положительных влияний малых доз называют радиационный гормезис и феномен адаптивного ответа. С другой стороны, существуют эпидемиологические данные, свидетельствующие об увеличении риска возникновения онкологических заболеваний

(стохастические эффекты) после воздействия острого облучения в дозах выше 50 мГр или хронического в дозе 100 мГр, а также медицинских диагностических процедур, в частности, компьютерной томографии. В этой связи, изучение биологических эффектов действия малых и средних доз ИИ становится особенно актуальным, поскольку использование ионизирующей радиации в медицинских целях составляет около 95% диагностических процедур.

На молекулярном уровне одной из основных мишеней ИИ является информационная макромолекула - ДНК. Ионизирующее излучение вызывает разнообразные повреждения ДНК: модификации оснований, однонитевые и двунитевые разрывы, апуриновые и апириимидиновые сайты (АП-сайты), ДНК-белковые сшивки, сшивки ДНК-ДНК и др. Среди этих повреждений двунитевые разрывы (ДР) ДНК являются наиболее критическими для дальнейшей судьбы клетки. Именно они запускают процессы клеточного ответа на воздействие ионизирующего излучения. Изучение механизмов возникновения и репарации этих повреждений остается актуальной проблемой.

Научная новизна исследований

Впервые на несинхронизированной популяции фибробластов кожи человека путем детального (по минутам и часам в течение первых суток) изучения кинетики возникновения и репарации двунитевых разрывов ДНК установлено, что абсолютное и относительное количество фокусов γ H2AX, pATM и Rad51 через 24 ч в клетках, облученных в дозах малого (20 – 80 мГр) диапазона было выше, чем после воздействия ИИ в средних дозах (160 – 1000 мГр).

Увеличение количества фокусов белков репарации через 24 ч после облучения клеток в дозах малого диапазона связано с образованием их *de novo* в результате стимуляции пролиферативной активности фибробластов.

Полученные результаты опровергают гипотезы о неэффективной, а также индуцибельной репарации ДНК после облучения в малых дозах.

Впервые показано, что репарация двунитевых разрывов ДНК, индуцированных облучением в малых дозах, происходит более «корректно», чем после облучения в средних дозах.

Научно-практическая значимость работы

Результаты анализа пострадиационных изменений количества фокусов белков репарации с расчетом вклада ГР чрезвычайно важны для оценки эффективности репарации радиационно-индуцированных ДР ДНК., а также индивидуальной радиочувствительности.

При изучении закономерностей индукции и репарации радиационно-индуцированных ДР ДНК в несинхронизированной клеточной популяции необходимо учитывать разнонаправленное - стимулирующее (для малых доз) или ингибирующее (для средних доз) действие ИИ в пролиферирующих клетках. Увеличение количества остаточных фокусов γ H2AX в результате клеточной пролиферации может приводить к ошибочному заключению о повышенном риске при облучении в малых дозах, что может свидетельствовать о более эффективной репарации ДР ДНК после облучения в малых дозах и о возможном отсутствии негативных эффектов в результате данного воздействия.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации

Автор принял непосредственное участие в выполнении исследований по всем разделам диссертации, включая подбор методических приемов, организацию и проведение экспериментов, статистическую обработку полученных данных, обобщение, анализ результатов и литературных данных, обоснование выводов. Личный вклад автора в диссертационном исследовании составил не менее 80%.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне с применением современных методов исследования. Полнота и объём материала в достаточной мере обосновывают выводы, вытекающие из полученных соискателем результатов и отвечающие на поставленные в диссертации задачи. Научные положения и выводы чётко обоснованы и логично вытекают из данных, полученных автором. Все полученные результаты соответствуют имеющемуся и полученному соискателем первичному материалу, достоверны и не вызывают сомнений.

Достоверность полученных результатов обеспечивается проведением большого количества экспериментов с достаточной воспроизводимостью; статистической обработкой полученных данных с заданной вероятностью и необходимым количеством повторных исследований; сопоставлением результатов, полученных разными методами, а также сравнением с аналогичными результатами, полученными другими авторами.

Полнота опубликования в печати

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

1. **А. К. Грехова**, П. С. Еремин, А. Н. Осипов, И.И. Еремин, М. В. Пустовалова, И. В. Озеров, Н. М. Сметанина, Н. Л. Лазарева, Н. Ю. Воробьёва, А. А. Пулин, О. А. Максимова, А. В. Гордеев, А. Ю. Бушманов, К.В. Котенко Замедленные процессы образования и деградации фокусов $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ в фибробластах кожи человека, облученных рентгеновским излучением в малых дозах. // **Радиационная биология. Радиоэкология.** – 2015. – Т. 55, № 4. – С. 395-401. DOI:10.7868/S0869803115040037. Scopus, **SJR=0.121**

2. A.N. Osipov, **A.Grekhova**, M. Pustovalova, I. V. Ozerov, P. Eremin, N. Vorobyeva, N.Lazareva, A. Pulin, A. Zhavoronkov, S. Roumiantsev, D. Klokov, I. Eremin Activation of homologous recombination DNA repair in human skin fibroblasts continuously exposed to X-ray radiation. // **Oncotarget**. – 2015. – V. 6, № 29. – P. 26876-85. DOI:10.18632/oncotarget.4946. Scopus, Web of Science, **IF= 5.168**
3. **А. К. Грехова**, М. В. Пустовалова, П. С. Еремин, И. В. Озеров, О. А. Максимова, А. В. Гордеев, Н. Ю. Воробьева, А. Н. Осипов Оценка вклада гомологической рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека после воздействия рентгеновского излучения в малой и средних дозах. // **Радиационная биология. Радиоэкология**. – 2018. – Т.58, № 5. – С. -, (в печати). Scopus, **SJR=0.121**
4. **А. К. Грехова**, М. В. Пустовалова, П. С. Еремин, Е.И. Яшкина, А. Н. Осипов Проблема анализа пострadiационных изменений количества фокусов γ H2AX в несинхронной клеточной популяции. // **Радиационная биология. Радиоэкология**. – 2018. – Т.58, № 6. – С. -, (в печати). Scopus, **SJR=0.121**

Основные положения и результаты диссертационной работы представлялись и докладывались на следующих научно-практических конференциях:

- Третьей Международной конференции по радиации и ее применению в различных областях исследований RAD 2015 (Будва, Черногория, 2015)
- Научной сессии НИЯУ МИФИ-2015 (Москва, 2015).
- XX ежегодной научной конференции Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (Москва, 2015)
- 42-й Конференции Европейского общества радиационных исследований (Амстердам, Нидерланды, 2016).

- Международном научно-практическом форуме «Ядерные технологии на страже здоровья» (Москва, 2016).
- XXIII ежегодной научной конференции Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, секция Динамика химических и биологических процессов. Москва, 2018 г.
- Школе-конференции молодых ученых с международным участием «Ильинские чтения» (Москва, 2018).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию. Присвоение пометки «Для служебного пользования» не является необходимым.

Заключение

Диссертационная работа Греховой А.К. на тему: «Особенности образования и репарации двунитевых разрывов ДНК в фибробластах кожи человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых и средних дозах» является законченной научно- квалификационной работой и полностью соответствует требованиям п.9 и п.14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335 в редакции Постановления Правительства РФ от 2 августа 2016 г. №748, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертация не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертация Греховой Анны Константиновны на тему: «Особенности образования и репарации двунитевых разрывов ДНК в фибробластах кожи человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых и средних дозах» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология.

Заключение принято на расширенном заседании секции №1 Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» с привлечением специалистов отдела кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Присутствовало на заседании 20 чел., в том числе, докторов медицинских наук – 4 чел., докторов биологических наук – 7 чел., кандидатов биологических наук – 7 чел., кандидатов медицинских наук – 2 чел. Результаты голосования: «за» - 20 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет. Решение принято единогласно (протокол № 5 от 25 сентября 2018 г.).

Зам. председателя

секции №1 Ученого совета ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России,

заведующий лабораторией

радиационной иммунологии и

экспериментальной терапии радиационных поражений,

доктор медицинских наук, профессор



Иванов Александр Александрович

Подпись доктора медицинских наук, профессора Иванова А.А. заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России,

кандидат медицинских наук



Голобородько Евгений Владимирович