

ОТЗЫВ
**официального оппонента на диссертационную работу Салеевой Дарьи
Владиславовны «Роль некодирующих РНК в активности генов при
действии радиации в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in
vitro*», представленную на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности 1.5.1 – радиобиология**

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Салеевой Дарьи Владиславовны посвящена изучению активности ряда генов и роли некодирующих РНК при действии ионизирующего излучения на нормальные и злокачественные клетки человека, а также на динамику опухолеобразования у мышей после облучения. Актуальность исследования обоснована тем, что радиотерапия продолжает оставаться одним из основных методов лечения злокачественных новообразований, практикуется широкое использование таких медицинских радиологических процедур, таких как компьютерная томография и рентгенография. Человечество сталкивается с ионизирующим излучением в различных сферах жизнедеятельности.

Хорошо известно, что ионизирующее излучение вызывает повреждение генетического аппарата и индуцирует развитие злокачественных новообразований. Однако действие малых доз радиации не до конца изучено и остается предметом дискуссий. Механизмы, лежащие в основе формирования радиационного адаптивного ответа, до сих пор до конца не ясны.

Совокупность научных данных в области радиационной биологии убедительно доказала, что глобальные изменения в экспрессии генов являются одной из ключевых составляющих биологических реакций на ионизирующем излучении. В современных исследованиях большое внимание уделяется изучению различных видов некодирующих РНК (микроРНК, малые интерферирующие РНК, длинные некодирующие РНК и др.), показана их важная роль в регуляции активности генов, в том числе в ответ на действие радиации. В отличие от работ, где изучали отдельные элементы генома при воздействии ионизирующего

вход №	4053
дата	06.10.2011
кол-во листов	6
фгбу гнц фмбц им. а.и. буданова фмбц россии	

излучения, в данной работе изучен комплекс молекулярно-генетических показателей, включающий взаимодействие ряда генов и некодирующих РНК.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации и их достоверность

Выводы диссертационной работы Салеевской Д.А. являются обоснованными и достоверными, поскольку базируются на обширном экспериментальном материале, полученным с использованием адекватных методов. Диссертационная работа выполнена на современном методическом уровне, соответствующем мировым стандартам, подразумевающим анализ происходящих процессов на молекулярном уровне. Основные положения и выводы диссертации логически следуют из поставленных задач, статистически значимых результатов и их обсуждения. Таким образом, обоснованность выводов и положений, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Научная новизна результатов исследования и их практическая значимость

В работе впервые показаны различия в активности ряда генов и некодирующих РНК в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных ранних маркеров опухолеобразования и возможных мишеней для терапии.

Выявленные различия в радиочувствительности нормальных и опухолевых клеток человека *in vitro* к действию малых доз радиации позволили сделать вывод о повышении устойчивости нормальных клеток, предварительно облученных в малой дозе перед облучением в высокой. Этот результат имеет высокую практическую значимость, т.к. на его основе можно разработать подход к защите здоровых клеток, окружающих опухоль, до проведения радиотерапии.

Получены новые данные об активности генов и некодирующих РНК в клетках разных органов мышей при пролонгированном облучении. Показано, что оценка активности генов и некодирующих РНК может быть применена для раннего прогноза радиоиндуцированного опухолесообразования и служить биомаркерами этого процесса.

Обнаружена тенденция к снижению опухолесобразования у мышей с инокулированными опухолевыми клетками при четырехкратном воздействии на них малых доз радиации.

В целом, полученные результаты характеризуются научной новизной, представляют не только теоретический, но и практический интерес как для радиобиологии, так и для медицинской радиологии.

Оиснка содержания и оформления работы

Диссертационная работа написана по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты исследований, заключение, выводы, список сокращений, список терминов и список литературы, включающий 206 источников, из них 21 отечественный и 185 зарубежных, а также приложение, в котором приведены характеристики мышей, использованных в экспериментах, олигонуклеотидные последовательности праймеров и температурно-временной режим ПЦР в реальном времени. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и включает 31 рисунок, 7 таблиц в основной части и 4 – в Приложении.

В введении автором обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены научная новизна и практическая значимость работы, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В главе 1 «Обзор литературы» детально рассмотрены различия в чувствительности нормальных и злокачественных клеток к действию радиации в малой и высокой дозе, охарактеризован феномен радиочувствительности, подробно разобраны сигнальные пути клеточного ответа на действие радиации. Детально описано изменение активности генов и их регуляторов в ответ на действие радиации. Особое внимание уделено роли некодирующих РНК как возможных маркеров прогноза онкологических заболеваний и мишней для терапии. На основании данного обзора литературы можно сделать вывод, что эффекты воздействия радиации, в частности в малых дозах, на клетки человека остаются дискуссионными, а актуальность этого вопроса не угасает.

В главе 2 «Материалы и методы» перечислены использованные реактивы и оборудование, представлена характеристика материалов исследования,

включающих биоптаты опухолей человека, клеточные культуры (лимфоциты крови человека и опухолевые линии), лабораторных животных (две линии мышей). Подробно описаны методы, использованные в работе: культивирование лимфоцитов, облучение клеточных линий и мышей, выделение РНК, обратная транскрипция, ПЦР в реальном времени. Использованные методы адекватны поставленным задачам, являются современными.

Третья глава «Результаты исследований» состоит из трех частей. В первой части изучены гены, регулируемые некодирующими РНК, при развитии плоскоклеточного рака горлани и показана их роль в качестве возможных показателей прогноза заболевания. Показано достоверное снижение активности гена *PTEN* и miR-27a и повышение экспрессии miR-21 в опухолевых тканях, а также повышение активности ряда показателей в крови пациентов. Кроме того, дана оценка индивидуальных различий в активности исследуемых показателей. Во второй части показаны различия в активности генов и некодирующих РНК в нормальных и злокачественных клетках человека при действии малых и высоких доз радиации на основе оценки выживаемости клеток и активности генов p53 и NF κ B и их мишений. В экспериментах установлено, что при действии малых доз радиации в нормальных лимфоцитах формировался адаптивный ответ, тогда как в клетках опухолевой линии (Jurkat) этого эффекта не наблюдалось. Наконец, в третьей части главы автором представлены результаты изучения активности генов и некодирующих РНК в динамике формирования опухолей после облучения мышей, в том числе пролонгированного облучения. Эти эксперименты также показали разнозаправленность экспрессии онкогенов и генов-супрессоров опухолей. Следует отметить, что полученные автором результаты в каждой части сопоставляются с литературными данными.

В заключении обобщены полученные результаты исследования. Выводы обоснованы и логически вытекают из содержания работы.

Основные результаты диссертационной работы отражены в 13 статьях, в рецензируемых журналах, в том числе одна – в журнале, индексируемом в базе цитирования Scopus, а также в 8 тезисах докладов, опубликованных в материалах

конференций. Содержание автореферата отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. На мой взгляд, недостаточно четко обоснован выбор конкретных изучаемых генов и некодирующих РНК. Небольшое замечание относится также к выводу 6. На мой взгляд, он не является выводом как таковым, следующим из поставленных задач исследования, его формулировка больше соответствует теоретической значимости работы. В тексте диссертации встречается небольшое количество опечаток. Однако в целом, высказанные замечания не снижают ценности рассматриваемой диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Салеевой Дарьи Владиславовны на тему «Роль некодирующих РНК в активности генов при действии радиации в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является заключенной самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Засухиной Гатиты Дмитриевны и консультированием кандидата биологических наук Михайлова Владимира Федоровича, в которой даётся новое решение актуальных задач радиобиологии и медицинской радиологии – поиск потенциальных ранних маркеров опухолеобразования и возможных мишней для терапии, а также разработка подходов к защите здоровых клеток, скружающих опухоль, до проведения радиотерапии. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Салеевой Дарьи Владиславовны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 и № 1168 от 01.10.2018), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, кандидата наук, а ее автор Салеева Дарья Владиславовна заслуживает

присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.1 – радиобиология.

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией мутагенеза, ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова», кандидат медицинских
наук

Воронина Екатерина Сергеевна

115478, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.
Бочкова»

эл. почта учреждения: mgnc@med-gen.ru

тел. +7(499)612-86-07;

эл. почта оппонента: vekats@inbox.ru

«28 » сентябрь 2021 г.

Подпись кандидата медицинских наук Ворониной Екатерины Сергеевны
заверяю.

Заместитель директора по научной работе
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова», доктор медицинских
наук

Ижевская Вера Леонидовна

