

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Глушковой Ольги Валентиновны на диссертацию Усупжановой Дарьи Юрьевны «ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МАЛЫХ И СРЕДНИХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Радиобиология» 1.5.1

Актуальность исследования и научная новизна

Вследствие распространенности естественных и антропогенных источников ионизирующей радиации, проблема радиационной безопасности находится в центре внимания не только мировой системы здравоохранения, но и специалистов других областей. Одной из сторон этой проблемы является исследование биологических эффектов малых доз излучения, не превышающих 50 мГр/год. Несмотря на кажущуюся безопасность такого воздействия, бесспорным является наличие порой парадоксальных биоэффектов малых доз радиации, в том числе, и существенно отдаленных по времени. Именно поэтому в своей диссертации Д.Ю. Усупжанова касается проблемы изучения как раннего, так и отдаленного действия малых доз ионизирующего излучения (ИИ) на функционирование стволовых клеток человека, оценке и сравнению эффектов малых и средних доз в отдаленные сроки культивирования этих стволовых клеток.

Работа Усупжановой Дарьи Юрьевны направлена на поиск нового способа оценки индивидуальной радиочувствительности человека. Действительно, для понимания направленности и выраженности биоэффектов малых доз ИИ важна не только информация о полученной дозе, но и сведения о функциональном состоянии облучаемого объекта. И таким объектом являются мезенхимальные стволовые клетки. Потенциал стволовых клеток и их пластичность обладают неоценимыми свойствами не только для регенеративной медицины, но и для радиобиологии. Автору удалось достичь

С отзывом ознакомлена. Усупжанова Д.Ю. 30.05.20

ВХОД №	2469
ДАТА	27 МАЙ 2022
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	7
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ	

одной из главных целей – был найден источник стволовых клеток, которые легко получить, и которые безопасны и эффективны в качестве индикатора для оценки биобезопасности, например, лучевой терапии. В этом плане исследование является уникальным и не имеющим аналогов в современной литературе.

Практическая значимость

Полученные в ходе исследования результаты могут стать основой разработки нового метода оценки рисков воздействия ионизирующего излучения на организм человека с использованием индивидуальных МСК. Это может иметь практическую значимость для анализа безопасности применения лучевой терапии в персонализированной медицинской практике, а также для разработки индивидуального подхода к оценке развития отдаленных последствий у лиц, получивших повреждения при радиационных авариях.

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

Обширная экспериментальная часть работы Усупжановой Дарьи Юрьевны, многообразие применяемых современных методов, грамотность подходов к планированию и проведению экспериментов позволило добиться полноценной реализации намеченной цели и обеспечивает достоверность сведений, изложенных в диссертационной работе. Полученный экспериментальный материал, воспроизводимость результатов и методы обработки экспериментальных результатов полностью обеспечивают достоверность научных положений и выводов диссертационной работы.

Содержание работы

Диссертационная работа Усупжановой Дарьи Юрьевны написана в традиционном стиле. Во «Введении» автор кратко описывает состояние

проблемы, актуальность работы и определяет цель и задачами диссертационной работы.

В первой главе – "Обзор литературы" – автор систематизирует современное состояние исследований в данной области науки. В этой части диссертационной работы Д.Ю. Усупжанова особое внимание уделяет фенотипическим, иммунобиологическим и функциональным характеристикам объекта исследования – МСК. В подглаве, касающейся характеристики МСК, Д.Ю. Усупжанова доказывает целесообразность выбора объекта с учетом отсутствия этических проблем для изучения и дальнейшего применения, детально и тщательно характеризует поверхностные антигены и секреторный профиль МСК. Кроме того, автор рассуждает о радиочувствительности стволовых клеток в целом и о молекулярно-клеточных механизмах, определяющих радиочувствительность. В последней подглаве обзора литературы Д.Ю. Усупжанова описывает современные представления об особенностях эффектов малых доз на гормезис, адаптивный ответ, радиорезистентность, генетическую нестабильность, эффект свидетеля в клетках, тканях, органах и организме в целом. Обзор литературы представляет собой добротное исследование, написанное хорошим языком без ненужных англицизмов, для большей легкости восприятия снабженное иллюстративным материалом.

Во второй главе диссертации Д.Ю. Усупжановой "Материалы и методы" описаны методологические подходы и методы, использованные при выполнении настоящей работы. Автором представлена схема дизайна эксперимента, что облегчает процесс восприятия. В этой главе приведены сведения о методах получения МСК, использованных в работе, описаны условия культивирования клеток и их криоконсервирования. В главе 2 подробно рассказано об условиях облучения, описаны иммунобиологические и биохимические методы, использованные в работе (оценка общего белка в средах, экспрессии поверхностных антигенов, концентрации цитокинов, количественном анализе пролиферации, оценка клеточных поколений,

культивирование необлученных МСК в кондиционированных средах облученных культур клеток). Проведено описание методологии статистического анализа. Описание методов, применяемых при выполнении диссертации, весьма точное, содержит все необходимые сведения для исследователей, желающих использовать эти современные подходы в своих работах.

В третьей главе "Результаты и их обсуждение" Усупжанова Д.Ю. описывает основные результаты проведенной работы. Эта глава содержит 4 подглавы, каждая из которых соответствует поставленным ранее автором задачам исследования. Помимо предоставления описания каждый из этих разделов иллюстрирован графиками, диаграммами, таблицами и фотографиями. Одним из интересных находок экспериментальной работы автора является использование CD117 в качестве маркера МСК слизистой десны человека, во всяком случае, на ранних этапах культивирования. Ранее об экспрессии этого рецептора было описано для небольшого количества МСК. Вероятно, наличие поверхностного CD117 является тканеспецифичным для МСК, и Д.Ю. Усупжанова впервые обнаружила его присутствие на поверхности МСК слизистой десны человека. В первой подглаве 3 раздела автор работы доказывает, что под влиянием малых доз ИИ происходит изменение состава поверхностных АГ МСК, что приводит к модификации функциональной активности этих клеток, в частности, их дифференцировочного потенциала. Безусловно, это оказывает влияние и на способность облученных МСК секретировать про- и противовоспалительные цитокины, что подробно описано во второй подглаве. Усупжановой Д.Ю. были показаны изменения секреторного профиля МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения малыми и средними дозами ИИ, что в целом может быть описано зависимостью «доза-эффект». Автор показала на различие воспалительных реакций, реализуемых МСК слизистой ткани десны под влиянием облучения в малых и средних дозах рентгеновского излучения. Интересно, что на отдаленных сроках

культивирования облученных как малыми, так и средними дозами МСК наблюдали схожие эффекты иммунной и функциональной депрессии клеток. В третьей главе автором также подробно описаны изменения пролиферативной активности и состава клеточных поколений МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения. Завершает главу «Результаты» раздел, посвященный изучению изменений пролиферативной активности необлученных МСК при их культивировании в кондиционированных средах, полученных от облученных МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.

Диссертационная работа Усупжановой Дарьи Юрьевны содержит также разделы "Заключение" и "Выводы", где автор резюмирует результаты своей работы. Можно заключить, что настоящая работа вносит весомый вклад в современное понимание проблемы действия малых доз ИИ и радиобезопасности в целом. Выводы диссертационной работы, опубликованные в одноименной главе, состоящей из 4 пунктов, являются логичными и соответствуют содержанию диссертации и поставленным цели и задачам. Работа Д.Ю. Усупжановой свидетельствует о научной зрелости автора.

Стоит отметить, что к работе имеются некоторые замечания.

1. В тексте диссертации встречаются немногочисленные опечатки (стр.43, вывод 4 на стр.107 написан с несколькими ошибками и т.д.). В работе не стандартизировано написание некоторых аббревиатур. Встречается написание как с использованием латинских, так и русских символов. Например, «IL» и ИЛ.

2. В «Списке сокращений» отсутствует расшифровка некоторых обозначений сокращений, использованных в тексте диссертации – BMP, CCL5/RANTES, EGF, FGF, G-CSF, GM-CSF, HGF, ICAM,IDO, IGF, IL, LIF, MCP-1, MMP-, PDGF, PGE, TIMP и т.д. Несмотря на то, что, согласно ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Список сокращений и условных обозначений, список терминов, список иллюстрированного материала и приложения не являются

обязательными элементами структуры диссертации», перевод этого раздела на русский язык и включение в его состав всех обозначений, использованных автором, безусловно, улучшило бы восприятие представленной работы.

3. Несмотря на то, что белковая тирозинкиназа c-Kit (CD117), рецептор фактора роста тучных и стволовых клеток, не является классическим маркером МСК, на ранних сроках культивирования ее экспрессия была заметной. Почему МСК утрачивают экспрессию CD117 к 16 дню культивирования даже в контрольной группе?

4. При изучении качественного состава кондиционированных сред МСК контрольный концентрационный уровень цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и VEGF-A весьма сильно разнился в зависимости от стадии культивирования (Таблицы 11-13). Чем можно объяснить этот феномен?

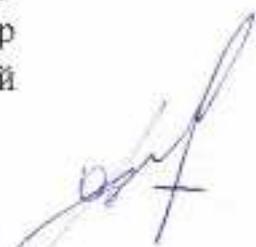
5. Известно, что ионизирующее облучение является причиной клеточной сенесценции. Был ли учтен этот фактор при анализе результатов?

Указанные недостатки не снижают ценность работы, тем более что основные результаты работы имеют серьезную фундаментальную и практическую значимость. В целом, считаю, что работа Усупжанова Д.Ю. выполнена на высоком профессиональном уровне, и представляет собой самостоятельное законченное исследование, в котором содержится решение важной научной задачи, связанной с исследованием молекулярно-клеточных механизмов ранних и отдаленных эффектов малых доз ионизирующей радиации. Содержимое автореферата полностью соответствует содержанию диссертации, следует отметить также научную и практическую перспективу полученных соискателем результатов, заключающуюся в рекомендации новых способов профилактики онкологических заболеваний. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в работе Усупжановой Дарьи Юрьевны, не вызывают сомнения.

Критический анализ диссертации Д.Ю. Усупжановой позволяет сделать заключение о высоком теоретическом уровне и практической значимости полученных в ней результатов, заключения и сделанных выводов. Работа обладает четкой структурой, материал подается автором в логической последовательности, продиктованной поставленной целью и раскрывающими ее задачами. Диссертация содержит необходимое количество иллюстративного и экспериментального материала, методы математической статистики используются соискателем корректно. По теме диссертации опубликовано 7 статей в реферируемых журналах.

Автореферат диссертации и публикации по ней отражают научную новизну и содержание работы. Диссертация выполнена в соответствии с требованиями п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Усупжанова Дарья Юрьевна, заслуживает присвоения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Радиобиология» 1.5.1

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов рецессии Института биофизики клетки Российской академии наук - обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»



/Глушкова О.В./

142290, г. Пушкино Московской области, Институтская, дом 3
Телефон 8 (4967) 73-93-77
Электронная почта: glushckova@mail.ru



Подпись
Глушковой О.В.
Удостоверяю
Глушкова

СГ 20.05.2022