

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Д.Ю. Усупжановой «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Диссертационное исследование Д.Ю. Усупжановой посвящено актуальной в теоретическом и практическом планах проблеме влияния малых доз ионизирующего излучения (ИИ) на мезенхимальные стромальные клетки (МСК) человека. В исследованиях эффектов, оказываемых малыми дозами ИИ, в частности, рентгеновского, сегодня существуют противоречия, поскольку некоторые исследовали указывают на развитие в диапазоне малых доз эффектов, непропорциональных полученной дозе облучения. И все же сегодня Международный комитет по радиационной защите продолжает придерживаться линейной беспороговой концепции, согласно которой эффект прямо пропорционален полученной дозе облучения, однако, о справедливости данной концепции сегодня продолжают спорить исследовали.

В свою очередь, МСК являются регенеративных резервом организма, поскольку обладают способностью к самоподдержанию и дифференцировке. Они могут претерпевать несколько циклов облучения, накапливая к себе происходящие изменения и передавая их следующим поколениям клеток, формирующих организм человека. Таким образом, МСК представляются перспективной биологической моделью изучения эффектов, оказываемых малыми дозами радиации на организм человека.

В настоящее время источники малых доз ИИ окружают человека повсеместно, и изучение эффектов малых доз радиации представляется важной задачей общественного здравоохранения. На основании вышеизложенного тему диссертационной работы следует считать актуальной.

Цель диссертационной работы Д.Ю. Усупжановой сформулирована как изучение влияния малых и средних доз рентгеновского излучения, а также кондиционированных сред, полученных от облученных 24.08.2022 на 27 мая 2022

кол-во листов: 2
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ
им. А.И. Бузнагяна ФИБА России

С благодарностью. Усупжанова Дарья 30.05.22

мезенхимальные стромальные клетки человека в ранние и отдаленные сроки культивирования после воздействия.

Для выполнения поставленной цели автором были сформулированы четыре задачи:

1. Изучить изменения состава профиля поверхностных антигенов МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.
2. Выявить изменения секреторного профиля МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.
3. Исследовать изменения пролиферативной активности и состава клеточных поколений МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.
4. Выявить изменения пролиферативной активности необлученных МСК при их культивировании в кондиционированных средах, полученных от облученных МСК в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.

Диссертационная работа Д.О. Усупжановой построена по классическому принципу и включает введение, литературный обзор, описание материалов и методов исследования, результаты исследования и их обсуждения, заключение, выводы и список используемой литературы.

Глава «Литературный обзор» занимает 36 страниц и представлена тремя разделами. Первый раздел посвящен описанию основных характеристик мезенхимальных стромальных клеток, их функций, выполняемых в организме человека, и областей применения. Во втором разделе освещается радиочувствительности стволовых клеток. В третьем разделе рассматриваются эффекты малых доз радиации, наиболее подробно описаны: двунитевые разрывы ДНК, радиационный гормезис, адаптивный ответ, радиочувствительность и радиорезистентность, геномная нестабильность и эффект свидетеля. Обзор литературы изложен доступным языком, основан на наиболее современных сведениях в изучаемой области, полностью вводит

читателя в круг анализируемых в диссертационной работе проблем и, в целом, оставляет приятное впечатление.

Содержание главы «Материалы и методы» изложено на 10 страницах. Раздел включает подробное описание всех используемых в диссертационной работе материалов и методов, с помощью которых было проведено исследование. Используемые методы адекватны, соответствуют поставленным задачам исследования. Выбор используемого для выявления статистически значимых различий парного *t*-критерия Стьюдента для связанных выборок обоснован условиями проведенного эксперимента.

Собственные результаты автора и их обсуждение изложены в главе «Результаты и обсуждение» на 43 страницах и включают 4 раздела. В диссертационной работе подробно изучены изменения, происходящие в характеристиках МСК слизистой ткани десны человека, облученных в дозах 50, 100, 250 и 1000 мГр, в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения.

В первом разделе приведены результаты исследования профиля поверхностных антигенов МСК, подвергнутых облучению малыми (50 и 100 мГр) и средними (250 и 1000 мГр) дозами ИИ. На ранних сроках культивирования после облучения обнаружены дозозависимые изменения экспрессии CD117 и CD90. В случае изменений экспрессии CD117 автор указывает на смысль явления радиочувствительности радиорезистентностью в диапазоне изучаемых доз, т.е. наиболее выраженный эффект (снижение уровня экспрессии) наблюдался для МСК, облученных малой дозой 50 мГр, в то время как для группы клеток, облученных в дозе 1000 мГр, уровень экспрессии CD117 был сопоставим с таковым для необлученной группы контроля. Также на ранних сроках культивирования после облучения изменения наблюдались в уровнях экспрессии CD73, CD105 и CD44. Профиль поверхностных антигенов предложен в качестве критерия оценки рисков, связанных с облучением, поскольку уровень их экспрессии указывает на

изменения функциональных свойств МСК, в частности, дифференцировочного потенциала.

Во втором разделе приведены результаты исследования секреторного профиля МСК, подвергнутых облучению малыми (50 и 100 мГр) и средними (250 и 1000 мГр) дозами ИИ. Исследование включало оценку концентраций общего белка, а также таких растворимых факторов, как ИЛ-6, ИЛ-8, VEGF-A, ИЛ-10 и IDO в кондиционированных средах, полученных от МСК:

1) В ранние сроки культивирования после облучения обнаружено повышение концентрации общего белка в кондиционированных средах после облучения в дозах 50, 100 и 250 мГр. Наблюданное явление расценивалось, как стимулирующий эффект облучения. Также на ранних этапах культивирования наблюдалось развитие противоположных воспалительных реакций в группах клеток, облученных малыми и средними дозами ИИ – повышение и снижение концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-6, соответственно, а также снижение и повышение концентрации противовоспалительного цитокина ИЛ-8, соответственно.

2) В отдаленные сроки культивирования после облучения обнаружено снижение концентраций исследуемых факторов (ИЛ-6, ИЛ-8) в кондиционированных средах МСК, облученных как малыми, так и средними дозами, что свидетельствует о снижении их функциональной иммуномодулирующей активности.

В третьем разделе приведены результаты исследования пролиферативной активности и состава клеточных поколений МСК, подвергнутых облучению малыми (50 и 100 мГр) и средними (250 и 1000 мГр) дозами ИИ:

1) В ранние сроки культивирования после облучения обнаружено усиление пролиферативной активности МСК, облученных в дозе 50 мГр, наблюдаемое явление расценивалось, как стимулирующий эффект облучения. В тоже время облучение в дозах 100, 250 и 1000 мГр приводило к снижению пролиферативной активности клеток.

2) В отдаленные сроки культивирования после облучения обнаружено снижение пролиферативной активности всех облученных групп МСК, что наряду со снижением концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 в кондиционированных средах свидетельствует о снижении функциональной активности облученных клеток.

В исследовании состава клеточных поколений облученных МСК также были обнаружены изменения, которые автор связывает с появлением в общей популяции клеток (после облучения в дозах 50, 100 и 250 мГр), субпопуляции с повышенной пролиферативной активностью. Однако наблюдаемые изменения не согласуются с результатами исследования пролиферативной активности клеток. Предполагается, что это связано с тем, что вклад обнаруженной субпопуляции клеток с усиленной пролиферацией в общую динамику пролиферативной активности невелик.

В четвертом разделе приведены результаты исследования изменений пролиферативной активности необлученных МСК под влиянием кондиционированных сред, полученных от облученных МСК. Обнаружено, что кондиционированные среды, полученные от клеток на ранних сроках культивирования после облучения, оказывают влияние на пролиферативную активность необлученных клеток. При этом:

1) влияние кондиционированных сред, полученных от МСК, облученных средними дозами (250 и 1000 мГр), согласуется с влиянием рентгеновского излучения в данных дозах на пролиферативную активность клеток (ее снижение), что соответствует в общепринятыми закономерностями развития эффекта свидетеля.

2) влияние кондиционированных сред, полученных от МСК, облученных малыми дозами (50 и 100 мГр), не согласуется с влиянием рентгеновского излучения в данных дозах на пролиферативную активность клеток.

В целом, представленное исследование позволяет взглянуть на проблему эффектов малых доз ИИ комплексно и достаточно приближенно к

человеческому организму, поскольку в работе используется модель МСК человека, являющихся регенеративным резервом организма, а само исследование осуществляется непрерывно на протяжении длительного периода времени, что дает возможность оценить изменение исследуемых критериев на ранних и поздних сроках после облучения и, таким образом, сделать вывод о закономерностях развития эффектов под влиянием малых доз ИИ. Работа имеет как фундаментальное теоретическое, так и прикладное значение: МСК слизистой ткани десны предложены в качестве модели для оценки индивидуальной радиочувствительности человека, а экспрессия их поверхностных антигенов в качестве критерия для оценки рисков воздействия малых доз ИИ.

Все полученные результаты исследования подробно описаны и проиллюстрированы 28 рисунками и 12 таблицами.

Результаты, приведенные в четырех разделах главы «Результаты и обсуждение», подытоживаются автором в главе «Заключение».

Все четыре вывода диссертационной работы логично вытекают из полученных данных и полностью соответствуют поставленным задачам исследования.

Список литературы содержит ссылки на 150 публикаций.

Замечаний по работе нет.

Анализ диссертационного исследования Д.Ю. Усупжановой позволяет заключить, что оно является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, в которой получены новые сведения о ранних и отдаленных эффектах облучения малыми и средними дозами радиации на МСК слизистой ткани десны человека.

Материалы диссертационной работы представлены в 7 печатных работах, входящих в перечень журналов рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из которых 5 публикаций включены в международные базы цитирования.

Все вышесказанное позволяет заключить, что диссертационная работа Д.Ю. Усупжановой «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего

излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека» соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ 24 сентября 2013 г., №842), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Заведующая лабораторией
радиационной биологии ФГБУН
«Южно-Уральский институт
биофизики» ФМБА России
доктор медицинских наук

«19» 05 2022г.

Рыбкина

В.Л. Рыбкина

456780, Челябинская область, г. Озёрск, Озёрское шоссе, д. 19,

e-mail: subi@subi.su

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Южно-Уральский институт биофизики» Федерального медико-биологического агентства России

Телефон: +7 (35130) 2-93-30

e-mail.ru: ribkina@subi.su

Подпись заведующей лаборатории
радиационной биологии Рыбкиной
Валентины Львовны заверяю:

Ученый секретарь ФГБУН ЮУр
ИБФ ФМБА России

«19» 05 2022г.



А.Б. Кочева