

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Усупжановой Дарьи Юрьевны на тему: «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – Радиобиология.

Диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. посвящена изучению влияния малых и средних доз рентгеновского излучения на мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) человека. Актуальность темы не вызывает сомнения, поскольку с малыми дозами облучения сталкивается любой современный человек, а МСК обеспечивают регенерацию многих тканей и органов в организме. Эффекты, оказываемые малыми дозами ионизирующей радиации на человека, в частности рентгеновского излучения, представляется одной из наиболее дискутируемых и спорных проблем современной радиобиологии и, в целом, важной задачей общественного здравоохранения.

В работе проведен многосторонний анализ эффектов, оказываемых облучением в дозах 50, 100, 250 и 1000 мГр на МСК, выделенные из слизистой ткани десны человека. Оценено влияние на пролиферативный потенциал, экспрессию поверхностных маркеров, участие отдельных клеток в формировании клеточной популяции на ранних и поздних пассажах, состав секрецируемых после облучения цитокинов и их влияние на необлученные клетки. Для этого были использованы адекватные современные методы исследования.

Автором впервые были получены оригинальные данные об изменениях пролиферативной активности МСК, экспрессии поверхностных антигенов (CD45, CD34, CD90, CD105, CD73, CD117, CD44) на МСК и секреторного профиля (общий белок, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, VEGF-A, IDO) этих клеток, как на ранних сроках после облучения, так и в отдаленном периоде. Особую значимость имеет тот факт, что не все описанные изменения регressируют со временем, и некоторые из них сохранялись все время наблюдения. Также показано действие секрецируемых факторов в наблюдаемых изменениях.

Результаты диссертационного исследования Усупжановой Д.Ю. весьма важны для адекватной оценки рисков и прогнозируемых опасностей для здоровья человека после облучения малыми дозами. Положения, выносимые на защиту, также

Соступжаной однакомлено. Усупжанова 30.05.22

ДАТА	27 МАЙ 2022
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	d
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ	

как и выводы, носят конкретный характер и соответствуют полученным экспериментальным данным.

Количество и качество научных публикаций соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ.

Считаю, что диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека» полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – Радиобиология.

Кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник лаборатории
физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ
гематологии» Минздрава России
125167, г. Москва, ул. Новый Зыковский
переулок, д. 4А

Петинати Наталия Арнольдовна



«13» мая 2022 г.

Телефон: 8 (495) 612-45-51
e-mail: petinati.n@blood.ru

Подпись Петинати Наталии
Арнольдовны заверяю
Ученый Секретарь ФГБУ НМИЦ
гематологии Минздрава России



Унан Левонович Джулакян

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Усунжановой Дары Юрьевны на тему: «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.1 – радиобиология

Критическими клеточными популяциями в отношении развития как ранних, так и отдаленных эффектов радиационного воздействия в диапазоне малых и средних доз, являются стволовые клетки. За счет обеспечения системы клеточного обновления организма, стволовые клетки являются основным источником самоподдержания клеточных популяций в организме человека. При действии ионизирующего излучения может происходить как непосредственная гибель стволовых клеток, что приводит к выраженным тканевым реакциям в раннем периоде, так и накопление мутаций, способствующих развитию отдаленных эффектов облучения. Кроме того, немицеские эффекты облучения, такие как «эффект свидетеля», радиационно-индуцированная нестабильность генома, обусловленные накоплением сублетальных повреждений могут приводить к онкотрансформации стволовых клеток. В связи с этим диссертационная работа Усунжановой Д.Ю., посвященная изучению влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МСК) человека является актуальной и соответствует современным задачам радиационной биологии.

Автором впервые было показано влияние рентгеновского излучения в диапазоне малых и средних доз на профиль экспрессии поверхностных антигенов МСК слизистой ткани десны человека. Установлено, что в отдаленные сроки после облучения МСК слизистой ткани десны человека в диапазоне малых и средних доз наблюдается угнетение их функциональной иммуномодулирующей активности. В ранние сроки после культивирования МСК с добавлением конденсированных сред, полученных от МСК, облученных в диапазоне малых и средних доз наблюдаются разнонаправленные эффекты.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных методов исследования, непрерывным культивированием клеточных линий на протяжении всего эксперимента, грамотным использованием методов математической статистики.

Сформулированные диссертантом выводы соответствуют цели и задачам исследования, являются убедительными и достоверными.

С отечественным уважением. Усунжанова Дарья Юрьевна
2012

ВХОД №	д398
ДАТА	д3.05.2012г.
КОЛ-ВО ЛИСТОВ:	1
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназова ФМБА России	

По теме диссертационной работы опубликовано 7 печатные работы, входящих в перечень журналов ВАК, из которых 5 публикаций включены в журналы из международных баз цитирования.

Вместе с тем, при ознакомлении с текстом автореферата у рецензента возник вопрос:

1. Автор указывает на наличие дозы-эффект при анализе ряда показателей (экспрессия некоторых поверхностных антигенов, концентрация ИЛ-6, ИЛ-8), в связи с этим проводился ли корреляционный и регрессионный анализ и если проводился, то какой вид зависимости установлен?

Указанный вопрос не снижает общей ценности диссертационной работы. На основании автореферата, диссертационная работа Усупжановой Дарьи Юрьевны на тему: «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стromальные клетки человека», является законченной самостоятельной квалификационной работой. Исходя из актуальности выбранной проблемы, теоретической и практической значимости, новизны полученных результатов, можно сделать заключение, что работа Усупжановой Д.Ю. соответствует требованиям п. 9 («Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции № 1024 от 28.08.2017 г.), а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.1 – радиобиология.

Кандидат биологических наук,
и.о. заведующего лабораторией
молекулярно-клеточной радиобиологии
ФГБУН Уральского Научно-Практического
Центра Радиационной Медицины ФМБА России

Е.А. Блинова

19.05.2022

Подпись кандидата биологических наук
Блиновой Е.А. занеряю:
Ученый секретарь ФГБУН
Уральского Научно-Практического
Центра Радиационной Медицины
ФМБА России
Кандидат биологических наук



С.А. Большакова

Адрес: 454141, Челябинск, ул. Воровского 68а, телефон: +7(351) 232-79-14, e-mail:
ursgm@yandex.ru

Отзыв

на автореферат диссертации Усупжановой Дарьи Юрьевны «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. посвящена актуальной проблеме – изучению эффектов, оказываемых малыми и средними дозами ионизирующего излучения (ИИ) на мезенхимальные стромальные клетки (МСК) человека.

Сегодня изучение эффектов малых доз радиации представляется важной задачей общественного здравоохранения, поскольку человек может получать критические значения доз облучения (20-50 мГр согласно Международной комиссии по радиологической защите) в рамках медицинской диагностики и лечения, во время авиаперелетов, в ходе профессиональной деятельности и т.д.

Биологическая модель МСК представляется актуальной для изучения эффектов малых доз ионизирующего излучения поскольку они являются регенеративным резервом организма, обладая потенциями к дифференцировке. Также, обладая способностью к самоподдержанию, МСК могут подвергаться хроническому облучению, накапливая в себе изменения и передавая из новым поколениям дифференцированных клеток организма.

В ходе диссертационного исследования были изучены изменения функциональных характеристик МСК (пролиферативная активность и состав клеточных поколений, секреторный профиль, экспрессия поверхностных антигенов) в ранние и отдаленные сроки культивирования после облучения в малых и средних дозах на рентгеновской установке РУСТ-М1.

Диссидентом показано, что в ранние сроки после облучения МСК малыми (50 и 100 мГр) и средними (250 и 1000 мГр) дозами ИИ наблюдаются дозозависимые изменения экспрессии поверхностных антигенов клеток (критерий предложен для оценки рисков воздействия малых доз ИИ), а также отмечено стимулирующее действие малых доз облучения на пролиферативную активность МСК и состав их клеточных поколений. На основании различий динамики изменения концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 в кондиционированных средах также сделан вывод о развитии противоположных воспалительных реакций под влиянием облучения малыми и средними дозами ИИ. Изучение влияния кондиционированных сред, полученных от облученных клеток, на пролиферативную активность необлученных МСК также показало различия в эффектах, оказываемых малыми и средними дозами ИИ, в рамках реализации «эффекта свидетеля».

дата	17 мая 2022
кол-во листов:	2
ФГБУ ГНЦ ОМБЦ им. А.И. Бурназяна ОМБА России	

Сдана для ознакомления. Гусевская М.
30.05.22

В отдаленные сроки после облучения описано угнетающее действие как малых, так и средних доз ИИ на функциональную активность МСК – снижение концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 в кондиционированных средах, а также снижение пролиферативной активности клеток.

Подробно описанные в автореферате методы исследования адекватны и оправданы для решения поставленных задач. В целом, обращает внимание высокий методологический и технический уровень проделанной экспериментальной работы.

Выводы работы обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Судя по автореферату, диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. является самостоятельным законченным научно-квалифицированным исследованием. Материалы диссертации опубликованы в журналах, входящих в список ВАК, а также были представлены на российских и международных конференциях.

Таким образом, на основании представленного в автореферате материала можно заключить, что диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека» отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Доктор биологических наук,
профессор,
Заведующий экспериментальным
отделом ФГБУН Уральский
научно-практический центр
радиационной медицины ФМБА
России

Пряхин Евгений Александрович

« 12 » мая 2022 г.

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

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уральский
научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-
биологического агентства России.

Телефон: 8 (351) 232-79-25

e-mail: prakhin@urcrm.ru

Горжусь, что имею честь представить Академику Евгению Александровичу
Усупжанову, завершающую кандидатскую степень.
Я, Евгений Александрович ПРЯХИН, заверяю.
Члены жюри: ЧМПЦ РМН
Генеральный директор
Уральский научно-практический центр радиационной медицины
ФМБА
России



Е.Ю. Усупжанова, кандидат биологических наук
16.05.2022

ОТЗЫВ

на антреферат диссертации Усунжановой Дары Юрьевны «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Проблема малых доз ионизирующих излучений (ИИ) была и остается наиболее сложной, имеющей не только радиобиологическое, но и социально-экономическое значение. Оценить опасность облучения в малых дозах в условиях действия на организм других негативных физических и химических агентов крайне сложно. До настоящего времени не существует единого взгляда на биологические эффекты этих воздействий. В этой связи, актуальность изучения эффектов, оказываемых малыми дозами ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки (МСК) человека, не вызывает сомнений.

Работа выполнена на высоком методическом уровне. В исследованиях использованы современные информативные методы: проточной цитофлуориметрии для оценки уровня экспрессии поверхностных антигенов клеток и состава их клеточных поколений, метод иммуноферментного анализа для оценки состава кондиционированных сред, физический метод детекции электрического сопротивления на две луники культурального планшета для оценки пролиферативной активности клеток.

Автором представлены новые экспериментальные данные об эффектах, оказываемых малыми (50 и 100 мГр) и средними (250 и 1000 мГр) дозами рентгеновского излучения на мезенхимальные стромальные клетки слизистой ткани десны человека. Показано, что экспрессия поверхностных антигенов CD117 и CD90 в ранние сроки культивирования после облучения изменяется в зависимости от дозы. При этом, с увеличением дозы облучения радиочувствительность клеток меняется их радиорезистентностью. Поскольку уровень экспрессии поверхностных антигенов связан с функциональной активностью МСК, а метод проточной цитофлуориметрии доступен и стандартизирован, данный критерий был предложен для оценки индивидуальной радиочувствительности у человека, а сами МСК слизистой ткани десны, благодаря их биологической доступности – в качестве удобной биологической модели.

Анализ состава кондиционированных сред, полученных от МСК в ранние сроки культивирования после облучения, показал, что малые и средние дозы радиации приводят к развитию противоположных воспалительных реакций, выражавшихся в различиях в динамике изменений концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8. В отдаленные же сроки культивирования после облучения как малыми, так и средними дозами ионизирующего излучения было установлено снижение концентраций обоих интерлейкинов, что свидетельствовало о понижение функциональной иммуномодулирующей активности всех облученных групп МСК.

При исследовании состава клеточных поколений через 29, 30, 31 и 32 дня после облучения, было отмечено статистически значимое увеличение количества клеток со сниженной интенсивностью флуоресценции в группах МСК, облученных малой и средней дозами ИИ 50 и 250 мГр. Подобные изменения могут указывать на появление в составе популяций МСК отдельных клеток с повышенной интенсивностью пролиферативной активности. При этом МСК, облученные средней дозой 1000 мГр, характеризовались снижением количества клеток с повышенной интенсивностью флуоресценции.

В свою очередь, в исследовании явления «эффекта свидетеля» было показано снижение пролиферативной активности МСК как после непосредственного облучения средними дозами, так и при их культивировании в кондиционированных средах, полученных от клеток, облученных средними дозами, что согласуется с общепринятыми закономерностями. Однако, в диапазоне малых доз излучения подобного соответствия

входные	данные
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ	им. А.И. Буказяна ФМБА России
КОЛ-ВО ЛИСТОВ: 2	3005-2

С

отпечаток руководителя Тулешанова

эффектов обнаружено не было, что наряду с описанным ранее стимулирующим действием на пролиферативную активность клеток и развитием противоположных воспалительных реакций указывает на наличие специфических эффектов в диапазоне малых доз.

Полученные Усупжановой Д.Ю. новые экспериментальные данные дополняют и расширяют существующие представления о ранних и отдаленных эффектах, оказываемых на мезенхимальные стромальные клетки человека малыми и средними дозами ионизирующего излучения. Результаты исследования могут быть использованы для разработки новых подходов коценке индивидуальной радиочувствительности человека.

Материал в автореферате изложен грамотно, все исследования выполнены в соответствии с методиками, выводы и заключения согласуются с результатами исследований и соответствуют поставленным задачам.

Замечаний и дополнений к изложению автореферата не имеется.

Актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы позволяют сделать заключение о том, что диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека» отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Доцент кафедры радиобиологии и
биофизики имени академика А.Д. Белова
ФГБОУ ВО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины
и биотехнологии - МВА имени К.И.
Скрябина», (109472, г. Москва, ул.
Академика Скрябина, 23)
larisa.rogzhina.52@mail.ru
8 (495) 377-68-89
кандидат биологических наук, доцент

Рогожина Лариса Васильевна

« 11 » мая 2022 г.

Подпись Рогожиной Л.В. удостоверяю:
Учёный секретарь ФГБОУ ВО
«Московская государственная
академия ветеринарной медицины
и биотехнологии - МВА имени К.И.
Скрябина»,
кандидат сельскохозяйственных наук



Маркин Сергей Сергеевич

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Усупжановой Дары Юрьевны на тему: «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – Радиобиология.

Актуальность темы диссертационного исследования Усупжановой Д.Ю. не вызывает сомнений, поскольку изучение влияния ионизирующего излучения в малых дозах на мезенхимальные стромальные клетки (МСК) человека может позволить яснее взглянуть на закономерности развития эффектов, происходящих в организме в ответ на облучения, в частности при прохождении медицинских диагностических процедур.

Объективность и научная обоснованность полученных результатов опирается на использование информативных методов исследования и современного валидированного оборудования для решения поставленных задач: метод проточной цитофлуориметрии (BD FACS CantoII) для оценки иммунологического профиля клеток, а также состава клеточных поколений, метод иммуноферментного анализа и флуориметр Qubit 4.0 для оценки секреторного профиля клеток, а также клеточный анализатор xCelligence для оценки пролиферативной активности клеток.

Автором впервые получены новые данные о характере функциональных изменений МСК, культивируемых вплоть до 12 пассажа после облучения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на ранних этапах культивирования после облучения наблюдается стимулирующее действие облучения в малых дозах на пролиферативную активность клеток, дозозависимые изменения в иммунологическом профиле МСК, а также развитие противоположных воспалительных реакций под влиянием малых и средних доз рентгеновского излучения. В отдаленные сроки культивирования эффекты облучения в малых дозах сопоставимы с эффектами облучения в средних дозах.

В целом, сделанные автором выводы конкретны, соответствуют поставленным задачам, отражают полученные результаты и представляют значительный интерес как с теоретической, так и с практической точки зрения: экспрессия поверхностных антигенов МСК передолжена в качестве

вход №	2532
дата	01.06.2022
кол-во листов:	2
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.Ф. Баранова ФМБА России	

С отдельной оценкой. Усупжанова

перспективного критерия оценки прогнозируемых опасностей для здоровья после облучения малыми дозами радиации, а сами МСК слизистой ткани десны в качестве модели для оценки индивидуальной радиочувствительной человека.

Автореферат диссертационной работы подготовлен на профессиональном уровне. Материалы диссертации отражены в 7 публикациях, входящих в перечень журналов рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из которых 5 публикаций включены в международные базы цитирования, а также были доложены на многочисленных научных конференциях, в том числе, международных. Замечаний по оформлению и представленному в автореферате материалу нет.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Усупжановой Д.Ю. «Оценка влияния малых и средних доз ионизирующего излучения на мезенхимальные стромальные клетки человека» полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – Радиобиология.

Кандидат медицинских наук,
доцент кафедры иммунологии
медицинского факультета
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1
Телефон: +7 (495) 434-0329
e-mail: rsmu@rsmu.ru


Пащенко Ольга Евгеньевна

«23» мая 2022 г.

Подпись Пащенко Ольги Евгеньевны
заверяю

Ученый секретарь ФГАОУ ВО
РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России, к.м.н., доцент





Демина Ольга Михайловна