

УТВЕРЖДАЮ

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



Самойлов А.С.

« 18 »

2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация Пустоваловой Маргариты Витальевны на тему: «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в малых дозах в мезенхимальных стволовых клетках человека» 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 Радиационной биофизики и экологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

С 2012 по 2014 гг. соискатель Пустовалова Маргарита Витальевна работала в должности инженера, а с 2014 г. по настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории Радиационной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный

научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна».

С 2014 по 2018 гг. Пустовалова М.В. проходила обучение в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

В 2012 г. окончила Московскую государственную академию ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина, ветеринарно-биологический факультет, по специальности «Биоэкология».

Кандидатские экзамены сданы.

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета отдела Динамики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (протокол №1 от 24 февраля 2015 г.).

Научный руководитель: Осипов Андрей 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 механизмы формирования эффектов облучения в малых дозах (10-100 мГр) являются одной из наиболее дискутируемых и спорных проблем в современной молекулярной и клеточной радиационной биологии. Особый интерес вызывают исследования эффектов облучения в малых дозах в стволовых клетках, в частности в мультипотентных мезенхимальных стволовых клетках (МСК), что связано с их высоким пролиферативным потенциалом и

возможностью накопления нарушений и мутаций с последующей передачей более высококодифференцированным клеточным потомкам.

Воздействие ионизирующего излучения (ИИ) на живые клетки приводит к образованию целого спектра разнообразных повреждений ДНК, среди которых наибольшую опасность для клетки и ее потомков представляют двунитевые разрывы (ДР ДНК). Клеточный ответ на воздействие ИИ напрямую зависит от числа накопленных ДР ДНК и может включать такие процессы, как остановка клеточного цикла, активация процессов репарации ДНК, индукция клеточного старения и запуск программ клеточной гибели по механизмам апоптоза или аутофагии.

Исследование эффектов воздействия ИИ в малых дозах в МСК может внести вклад в понимание биологических процессов, происходящих в этих клетках в ответ на такие повреждения и оценить эффекты, получаемые в результате облучения в малых дозах, в том числе и при прохождении медицинских диагностических процедур.

Научная новизна исследований

Впервые на МСК человека были получены оригинальные данные о характере изменений количества и колокализации фокусов γ H2AX (маркер ДР ДНК) и фокусов активной киназы pATM в МСК человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых (20, 40, 80 мГр) и средних дозах (160, 250 и 1000 мГр) в ранние временные сроки после облучения (0,5 ч, 4 ч, 24 ч).

Впервые проведена дифференцированная оценка количества фокусов γ H2AX в пролиферирующих и покоящихся длительно культивируемых необлученных МСК при использовании маркера клеточной пролиферации, белка Ki67.

Впервые на МСК человека была оценена биологическая значимость остаточных фокусов γ H2AX, позволяющая опровергнуть гипотезу, связывающую их повышенное содержание в клетках после облучения в

малых дозах с неэффективной репарацией или индуцибельным характером репарации ДР ДНК. Нами было показано, что этот феномен скорее обусловлен образованием новых фокусов γ H2AX в результате репликативного стресса, вызванного стимуляцией клеточной пролиферации.

В конечном итоге, результаты исследований, полученные на клетках, культивируемых вплоть до 11 пассажа после облучения, свидетельствуют о том, что облучение МСК человека в малых дозах не приводит к эффектам, связанным с преждевременным старением и нестабильностью генома.

Научно-практическая значимость работы

Изучение закономерностей формирования ранних и отдаленных последствий воздействия ИИ в малых дозах представляет собой актуальную, имеющую общебиологическое значение задачу, а ее решение позволит получить новые научные знания, имеющие фундаментальное значение для радиационной биологии и медицины. Полученные данные вносят важный вклад в понимание биологических процессов, проходящих в длительно-культивируемых МСК и могут быть использованы в клинической практике для оптимизации протоколов экспансии стволовых клеток, необходимых для клеточной терапии. Результаты наших исследований также чрезвычайно важны для адекватной оценки опасности облучения в малых дозах. Мы предполагаем, что использование фокусов γ H2AX в биодозиметрии может приводить к значительной переоценке доз и риска облучения и, возможно, требует дополнительных исследований.

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 опубликованы в 11 печатных работ. Из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, входящих в базы цитирования Scopus и Web of Science.

1. **M. Pustovalova**, T.A. Astrelina, A. Grekhova, N. Vorobyeva, A. Tsvetkova, T. Blokhina, V. Nikitina, Y. Suchkova, D. Usupzhanova, V. Brunchukov, I. Kobzeva, T. Karaseva, I.V. Ozerov, A. Samoylov, A. Bushmanov, S. Leonov, E. Izumchenko, A. Zhavoronkov, D. Klokov, A.N. Osipov Residual γ H2AX foci induced by low dose x-ray radiation in bone marrow mesenchymal stem cells do not cause accelerated senescence in the progeny of irradiated cells. //

- Aging (Albany NY)**. 2017. V. 9. No. 11. P. 2397-2410. doi: 10.18632/aging.101327. / Scopus, Web of Science, **IF= 4.867**
2. **M. Pustovalova**, A. Grekhova, T. Astrelina, V. Nikitina, E. Dobrovolskaya, Y. Suchkova, I. Kobzeva, D. Usupzhanova, N. Vorobyeva, A. Samoylov, A. Bushmanov, I.V. Ozerov, A. Zhavoronkov, S. Leonov, D. Klokov, A.N. Osipov Accumulation of spontaneous γ H2AX foci in long-term cultured mesenchymal stromal cells. // **Aging (Albany NY)**. 2016 . V. 8. Issue 12. P. 3498-3506. doi: 10.18632/aging.101142 / Scopus, Web of Science, **IF= 4.867**
 3. A.N. Osipov, **M. Pustovalova**, A. Grekhova, P. Eremin, N. Vorobyova, A. Pulin, A. Zhavoronkov, S. Roumiantsev, D.Y. Klokov, I. Eremin Low Doses of X-rays Induce Prolonged and ATM-independent Persistence of γ H2AX Foci in Human Gingival Mesenchymal Stem Cells. // **Oncotarget**. 2015. V. 6. No. 29. P. 27275-27287. doi:10.18632/oncotarget.4739 / Scopus, Web of Science, **IF= 5.168**
 4. **M.B. Пустовалова**, А.К. Грехова, А.Н. Осипов Мезенхимальные стволовые клетки: эффекты воздействия ионизирующего излучения в малых дозах.//**Радиационная биология. Радиоэкология**. 2018.Т.58. №4 (в печати). Scopus, **SJR=0.121**

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

- 23-ей Международной конференции по вопросам радиации и здравоохранения (CRH), г. Ваиколоа-Виллидж, Гавайи, США, 2016 г.
- Международном научно-практическом форуме «Ядерные технологии на страже здоровья», Москва, 2016 г.

- XXII ежегодной научной конференции Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, секция Динамика химических и биологических процессов. Москва, 2017 г.
- 42-м конгрессе Федерации европейских биохимических обществ (FEBS), г. Иерусалим, Израиль, 2017 г.
- XXIII ежегодной научной конференции Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, секция Динамика химических и биологических процессов. Москва, 2018 г.
- Школе-конференции "Ильинские чтения", Москва, 2018 г.

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

Заключение

Диссертационная работа Пустоваловой М.В. на тему: «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в малых дозах в мезенхимальных стволовых клетках человека» является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям п. 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к кандидатским диссертациям

Диссертация не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертация Пустоваловой Маргариты Витальевны на тему: «Ранние и отдаленные эффекты воздействия рентгеновского излучения в малых дозах в мезенхимальных стволовых клетках человека» 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 Динамики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук.

Присутствовало на заседании 16 чел., в том числе, доктор медицинских наук – 3 чел., доктор биологических наук – 4 чел., кандидат биологических наук – 9 чел. Результаты голосования: «за» - 16 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет. Решение принято единогласно (протокол № 3 от 15 мая 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