

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Блохиной Таисии Михайловны «Повреждение ДНК лимфоцитов периферической крови и спленоцитов млекопитающих при моделировании воздействия космического ионизирующего излучения», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. – Радиобиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Важнейшей задачей при организации длительных космических полетов является обеспечение экипажам космических кораблей надлежащего уровня радиационной безопасности. Сложный состав космического излучения и широкий энергетический спектр входящих в него частиц предопределяет трудности адекватной оценки реальной радиационной опасности во время космического полета. Около 90% галактического и солнечного космических излучений составляют протоны широкого энергетического спектра. Понимание радиобиологического действия протонов является принципиальным моментом для оценки неблагоприятного действия радиации в орбитальных и, в будущем, в межпланетных полетах. Во время космического полета радиационную ситуацию трудно спрогнозировать, поэтому особое значение приобретает разработка комплекса мероприятий, направленного на защиту живых организмов от неизвестного действия ионизирующего излучения, и изыскание способов ослабления негативного воздействия радиации. Во время межпланетных космических полетов, связанных с выходом корабля за пределы магнитосферы Земли, космонавты будут подвергаться комбинированному воздействию различных негативных факторов, важнейшими из которых являются ионизирующее излучение и невесомость. Ионизирующее излучение с высокой ЛПЭ, которое присутствует в космическом излучении, генерирует в основном сложные и кластерные повреждения ДНК, репарация которых затруднена. Оценить склонность и эффективность репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК можно изучая кинетику изменения количества фокусов гистона γH2AX. Регистрация фокусов γH2AX является высокочувствительным методом мониторинга образования и ремонта ДР в отдельных клетках после воздействия ионизирующего излучения.

Таким образом, диссертационное исследование Таисии Михайловны Блохиной, посвященное исследованию повреждений ДНК лимфоцитов периферической крови и спленоцитов млекопитающих в наземных экспериментах по моделированию воздействия космического излучения безусловно является актуальным и своевременным.

с благодарностью 12.09.22 Блохина

БЛОХИНА ТАИСИЯ МИХАЙЛОВНА
ФГБУ ГНИ ФМБЦ
им. А.И. Бурнзина ФМБА России

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

Основные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе Т.М. Блохиной, научно обоснованы, закономерно следуют из результатов, базируются на достаточном экспериментальном материале. Работа выполнена на хорошем методическом уровне с использованием современных методов, достоверность результатов, обеспеченная использованием в экспериментах достаточного количества животных, хорошей воспроизводимостью в независимых сериях экспериментов, не вызывает сомнений. Статистическая обработка результатов проведена корректно и позволяет в полной мере обосновать выводы диссертации и положения, выносимые на защиту.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Впервые изучено влияние локального облучения гиппокампа головного мозга макак-рэзус высоконергетичными ядрами криптона-84 на уровень ДР ДНК в лимфоцитах периферической крови в краткосрочный и отдаленный периоды и показано, что локальное облучение гиппокампа в дозе 3 Гр приводило к увеличению доли лимфоцитов периферической крови с повышенным, по сравнению с контролем, уровнем γ H2AX, причем эффект сохранялся вплоть до 42 суток после облучения. Впервые в экспериментах на макаках-рэзус было исследовано комбинированное действие ИИ и моделируемой невесомости, имитирующие условия космического полета, на эффективность репарации ДР ДНК лимфоцитов периферической крови в отдаленный период после облучения (вплоть до 446 сут) и продемонстрировано, в этих условиях репарация нарушается или замедляется. Впервые на аутбредных мышах было проведено исследование защитных антирадиационных свойств оболочки космического корабля в комбинации с традиционными защитными материалами. Было показано, что оболочки космического корабля не позволяет существенно снизить ДНК-повреждающий эффект 163 МэВ протонного излучения. Впервые исследованы эффекты вторичного излучения, образующиеся при прохождении пучка низкозенергетических протонов через бетонную преграду толщиной 20-80 см. Показано, что хотя бетон и позволяет существенно снизить поток первичного протонного излучения с энергией 650 МэВ, однако, с увеличением толщины преграды с 20 до 80 см, существенно меняется спектр вторичного излучения и увеличивается вклад нейтронов, что вызывает негативные биологические эффекты,

выражаются в увеличении уровня апоптоза в селезенке и доли γН2АХ-позитивных спленоцитов.

Полученные в результате диссертационного исследования результаты расширяют представления о радиобиологическом действии ускоренных частиц и могут быть использованы при разработке эффективной защиты от действия космического излучения.

Полнота изложения основных результатов диссертации в рецензируемых научных изданиях

Основные результаты диссертации отражены в 3 статьях в рецензируемых научных журналах, исключенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России и индексированных в базах данных Web of Science и Scopus, а также были представлены на международных и отечественных конференциях и опубликованы в 5 сборниках конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа Т.М. Блохиной построена по классическому принципу и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, описание результатов исследования и их обсуждение, выводы и список цитируемой литературы, содержащий 173 источника. Диссертация изложена на 103 страницах печатного текста, иллюстрирована 27 рисунками и содержит 1 таблицу.

Введение посвящено обоснованию актуальности исследования, изложены цель и задачи работы, новизна и практическая значимость. Задачи соответствуют поставленной цели, положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно.

Обзор литературы занимает 26 страниц и представлен 2 разделами. В первом разделе автор рассматривает типы космического излучения, дает характеристику компонентам космического излучения, и оценивает радиационную опасность для человека в условиях космического полета. Второй раздел посвящен влиянию компонентов космического ионизирующего излучения на целостность ДНК. Автор подробно описывает механизмы повреждения и репарации ДР ДНК, а также дает оценку возможным последствиям нарушения репарации.

Обзор литературы охватывает современные сведения по изучаемым вопросам, вводит читателя в круг анализируемых автором проблем. Обзор написан хроничным литературным языком, легко читается. К сожалению, обзор литературы обрывается после описания цитогенетических нарушений.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны все использованные автором материалы и методы, с помощью которых проводилось исследование. Все использованные методы полностью адекватны поставленным задачам.

Собственные результаты автора изложены в соответствующей главе. Автором было обнаружено, что локальное облучение гиппокампа головного мозга макак-рhesus ядрами криптона-84 в дозе 3 Гр приводило к статистически значимому увеличению доли лимфоцитов периферической крови с повышенным уровнем повреждений ДНК. Причем этот эффект наблюдался и в отдаленном периоде вынужденной до 42 суток после облучения. Далее Т.М. Блохина изучала влияние комбинированного воздействия двух типов ИИ (гамма-излучение и ионы углерода) и моделируемой невесомости, имитирующие условия космического полета, на эффективность репарации ДНК лимфоцитов периферической крови обезьян в динамике (от 1 до 446 сут) и обнаружила замедление репарации ДР ДНК в лимфоцитах периферической крови при таком комбинированном воздействии, которое сохранялось в течение полутора месяцев.

Второй и третий разделы главы посвящены исследованию защитного действия оболочки проектируемого космического корабля и бетонной конструкции на живые организмы. В качестве экспериментальных животных в данном случае использовались аутбредные мыши, а эффект оценивался по состоянию селезенки (органический индекс, ДР ДНК и антигены спленоцитов) через 18 ч после облучения. В модельных экспериментах было показано, что оболочка проектируемого космического корабля снижает ДНК-повреждающий эффект 163 МэВ протонного излучения. Лишь в комбинации: 4 мм алюминий + трехслойная конструкция каркаса проектируемого космического корабля + плексиглас толщиной 50 мм или + водный фантом с толщиной 160 мм наблюдалось 30%-е снижение количества доли положительных по γН2АХ спленоцитов.

При исследовании защитного действия бетона автор использовала бетонные конструкции различной толщины; при этом животных размещали на разном расстоянии от центра пучка протонов. Анализ полученных экспериментальных данных выявил два противоположных эффекта, а именно: бетонная преграда позволяет существенно снизить поток первичного протонного излучения, снижая с увеличением толщины бетона выраженность негативных биологических эффектов у мышей, облучаемых в центре пучка. С другой стороны, с увеличением толщины бетонной преграды существенно меняется спектр вторичного излучения и увеличивается доля пейтронов, что вызывает негативные биологические эффекты, выражавшиеся в увеличении доли спленоцитов с ДР ДНК и TUNEL-положительных клеток.

Все 5 выводов диссертационной работы логично вытекают из полученных данных, адекватны и полностью обоснованы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, предъявляемыми к авторефератам, дает полное представление об основных положениях диссертации и соответствует ее содержанию.

Замечания по содержанию и оформлению диссертационной работы

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Т.М. Блохиной нет.

Вопросы и замечания не принципиального характера:

1. Обзор литературы обрывается после описания цитогенетических нарушений. Следовало бы, все-таки, как-то обобщить приведенные литературные данные и обосновать актуальность диссертационного исследования.
2. Так как в качестве метода исследования уровня γ Н2АХ была использована проточная цитометрия, необходимо было привести в диссертации типичные гистограммы. Так как краситель Alexa Fluor 488 плохо сочетается с PI (при возбуждении флуоресценции одним и тем же лазером), было бы интересно узнать, как диссертант обходит данную проблему.
3. Не совсем понятно, с какой целью использовали йодистый пропиляй. Дуплеты рекомендуется исключать из зоны анализа по-другому.
4. В подписи к рисункам 25-27 не указано, что означает 1 звездочка и 2 звездочки. (Догадаться можно по аналогии с предыдущими рисунками, но все-таки следовало указать)

Следует подчеркнуть, что замечания посягают лишь частный характер и ни в коем случае не снижают ценность полученных результатов и не ставят под сомнение научную значимость исследования.

Заключение

Диссертационная работа Блохиной Таисии Михайловны на тему: «Повреждение ДНК лимфоцитов периферической крови и спленоцитов мlekопитающих при моделировании воздействия космического ионизирующего излучения», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. – Радиобиология, является самостоятельной цельной законченной, научно-квалификационной работой, результаты и выводы которой вносят существенный вклад в развитие космической радиобиологии и радиационной медицины. Диссертационная

работа Блохиной Т.М. соответствует специальности 1.5.1. – Радиобиология. По своей актуальности, научной новизне, содержанию, объему и уровню проведенных исследований, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности полученных результатов, научной и практической значимости, диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.п. 9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Блохина Таисия Михайловна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. – Радиобиология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории
клеточной биологии и молекулярной медицины
ФГБУ «Национальный исследовательский центр
«Курчатовский институт»
(03.01.04 – биохимия)

Посыпанова Г.А.

123182, Российская Федерация, г. Москва,
площадь Академика Курчатова, 1.
Телефон: +7(499)196-7100, доб. 6683
Электронная почта: galinapo@gmail.com

Подпись Посыпановой Галины Ароновны заверяю:

Главный научный сотрудник НИЦ
«Курчатовский институт»

12 сентября 2022



К.А. Сергунова