

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России

д.м.н., член-корреспондент РАН

Самойлов А.С.

2021г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация Салеевой Дарьи Владиславовны на тему: «Роль некодирующих РНК в активности генов при действии радиации в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата медицинских 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».

С 2015г. по настоящее время соискатель Салеева Дарья Владиславовна работает в должности младшего научного сотрудника в «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна».

Также с 2018г. по настоящее время соискатель работает в должности младшего научного сотрудника в «ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии».

В 2017г. окончила Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова Медико-биологический факультет. В 2019г. окончила ординатуру в Российском университете дружбы народов по

специальности «Врач-рентгенолог» на кафедре Рентгенологии. Кандидатские экзамены сданы.

Тема диссертации утверждена на заседании секции №1 Ученого совета ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России (протокол № 5 от 04.12.19 г.).

Научный руководитель: Засухина Галина Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник «Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН» и ведущий научный сотрудник «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна».

Научный консультант - Михайлов Владимир Федорович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что вопрос о действии ионизирующего излучения в малых дозах (МДР) до сих пор является одной из наиболее дискутируемых и спорных проблем в современной молекулярной и клеточной радиационной биологии. В последние годы особое внимание уделяется применению МДР в терапии разных патологий человека, начиная от воспалительных процессов до опухолеобразования. Этот феномен объясняется одним из проявлений гормезиса, когда МДР создают устойчивость к воздействию ионизирующего излучения в высоких дозах радиации (ВДР) и ряду химических мутагенов в нормальных клетках, не оказывая влияния на злокачественные клетки. МДР обладают стимулирующим эффектом воздействия на разные показатели жизнедеятельности организма, в том числе на активацию иммунного статуса. Имеются отдельные публикации о вовлечённости некоторых генетических структур при воздействии МДР, например, при опухолеобразовании.

Однако, остается неясным, какие генетические структуры являются ведущими и могут ли они

МДР, так и при ВДР в нормальных и злокачественных клетках. Принципиальная разница в ответе нормальных и злокачественных клеток на действие МДР позволяет выявить подход к оценке показателей жизнедеятельности организма. Так, действие МДР усиливает иммунный статус и активирует структуры, контролирующие клеточный гомеостаз к стрессовым воздействиям, являющихся источником различных патологий человека, в частности, опухолеобразования.

Научная новизна исследований

1. Впервые показаны различия роли генов и некодирующих РНК (микроРНК и днРНК) в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*, в процессе радионизуцированного опухолеобразования, что позволяет использовать их в качестве ранних показателей патологии и возможных мишней для терапии.

2. Выявлены различия в радиочувствительности нормальных и злокачественных клеток человека линии Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия) *in vitro* к действию МДР, которая выражалась в повышенной устойчивости нормальных клеток, предварительно облученных МДР, перед облучением ВДР. Впервые показана активация ряда генов-супрессоров и ингибирование некоторых онкогенов (гены, днРНК и микроРНК), различающиеся в нормальных и опухолевых клетках.

3. Анализ генов и некодирующих РНК в клетках мышей разных органов при пролонгированном облучении (12,6 Гр в течение 21 часа) выявил особенности их активности в динамике и позволил выделить ранние прогностические маркеры до периода опухолеобразования.

4. Была обнаружена тенденция к снижению опухолеобразования у мышей линии C57Bl/6 с предварительно трансплантированными в заднюю лапу опухолевыми клетками, которые подвергались 4х-кратному облучению в МДР (75 мГр) на 10, 13, 17, 21 сутки после трансплантации. При этом в клетках костного мозга, тимуса и селезенки у инокулированных животных наблюдали активацию генов-супрессоров и ингибирование ряда онкогенов.

5. Обнаружение устойчивости нормальных клеток человека, облученных в МДР перед облучением в ВДР, в отличие от злокачественных клеток позволяет рекомендовать этот подход для преклинических исследований при радиотерапии, что позволит сохранять нормальную, окружающую опухоль ткань.

Научно – практическая значимость работы

Применение МДР в системах *in vivo* и *in vitro* может позволить определить ряд положительных эффектов, связанных со стабилизацией здоровых клеток при применении ВДР. Такой подход может быть эффективным для защиты нормальных клеток, окружающих опухоль при радиотерапии.

Изучение и идентификация патологических путей, в которых задействованы гены и некодирующие РНК, в ответе на действие радиации в малой и высокой дозе в нормальных и злокачественных клетках могут представлять практическую значимость для разработки панели биомаркеров как ранних показателей радиоиндуцированного онкологического заболевания.

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 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 объем материала в достаточной мере обосновывают выводы, вытекающие из полученных соискателем результатов и отвечающие на поставленные в диссертации задачи. Научные положения и выводы четко 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 13 печатных работ. Из них 1 статья опубликована в рецензируемом журнале, входящем в базу цитирования Scopus, 12 – рекомендованных ВАК.

1. Saleeva D.V. Changes in the Activity of Genes Involved in the Regulation of Hematopoiesis during Tumorigenesis in Irradiated Mice / Saleeva D.V., Mikhailov V.F., Rzhdestvenskii L.M., Shulennina L.V., Raeva N.F., Zasukhina G.D. // Doklady Biological Sciences. 2020, V. 491, pp. 57–59.
2. Шуленина Л.В. МикроРНК в крови пациентов с раком предстательной железы как возможный показатель ранних осложнений лучевой терапии / Шуленина Л.В., Михайлов В.Ф., Раева Н.Ф., Салеева Д.В., Незнанова М.В., Засухина Г.Д. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. 57 (6): 598-607
3. Рождественский Л.М. Оценка влияния противолучевых средств при пролонгированном низкомощностном излучении на экспрессию генов и микроРНК в костном мозге мышей в отдаленный период / Рождественский Л.М., Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф., Салеева Д.В. // Радиационная биология. Радиобиология. Радиоэкология. 2018. Т.58. №6: 608-618
4. Салеева Д.В. Функционирование регуляторных РНК, влияющих на развитие онкологических клеток у больных раком горлани / Салеева Д.В., Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Бахтин А.А., Акопян К.В., Виноградов В.В., Незнанова М.В., Засухина Г.Д. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия - 2018; 62(4).
5. Михайлов В.Ф. Некоторые аспекты канцерогенеза, связанные с генетическими и эпигенетическими факторами / Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Васильева И.М., Салеева Д.В., Засухина Г.Д. // Успехи современной биологии, 2018, том 138, № 5, с. 3–21.
6. Шуленина Л.В. Профили экспрессии генов и некодирующих РНК в биоптатах тканей и клетках крови пациентов с разной патологией после радиационного

- воздействия / Шуленина Л.В., Михайлов В.Ф., Васильева И.М., Салеева Д.В., Незнанова М.В., Засухина Г.Д. // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. – 2019. 1: 103-111.
7. Михайлов В.Ф. Влияние малых доз ионизирующей радиации на экспрессию генов и некодирующих РНК в нормальных и злокачественных клетках человека / Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф., Васильева И.М., Салеева Д.В., Незнанова М.В., Засухина Г.Д. // Цитология. 2019. 61, № 6, с. 427–438.
8. Mikhailov V.F. The effect of low doses of ionizing radiation on the expression of genes and non-coding RNA in normal and malignant human cells / Mikhailov V.F., Shulenina L.V., Raeva N.F., Vasilieva I.M., Saleeva D.V., Neznanova M.V., Zasukhina G.D. // Cell and Tissue Biology. 2019.V.13. Pp. 423-433(2019).
9. Шуленина Л.В. Сравнительный анализ длинных некодирующих рнк NEAT1, MALAT1, GAS5, ROR, HOTAIR в крови больных раком простаты до и после лучевой терапии / Шуленина Л.В., Михайлов В.Ф., Незнанова М.В., Салеева Д.В., Засухина Г.Д. // Саратовский научно-медицинский журнал 2019; 15 (4): 1004–1008.
10. Салеева Д.В. Анализ изменения активности генов, контролирующих регуляцию гемопоэза при формировании опухолей у облученных мышей / Салеева Д.В., Михайлов В.Ф., Рождественский Л.М., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф., Засухина Г.Д. // Доклады академии наук. Науки о жизни. 2020, 491: 168-171
11. Шуленина Л.В. Необходимость стандартизации и валидации метода ПЦР в реальном времени для определения зрелой miR-21 в крови пациентов / Шуленина Л.В., Салеева Д.В. // Медицинская генетика. 2020; 19(12): 66-67.
12. Михайлов В.Ф. Активность генов и некодирующих РНК как подход к определению ранних биомаркеров радиоиндуцированного опухолеобразования у мышей / Михайлов В.Ф., Салеева Д.В., Рождественский Л.М., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф., Засухина Г.Д. // Генетика. 2021: 11 – принятка к печати.
13. Салеева Д.В. Перспективы применения малых доз радиации в комплексной терапии COVID-19 / Салеева Д.В., Засухина Г.Д. // Вопросы вирусологии. 2021; 66 - принятка к печати

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

- Международная конференция "Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений" (Дубна, 9-11 ноября 2016 г.)
- XII Международная Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых, Москва, 2017
- XIII Международная Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых, Москва, 2018
- Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева. 7–10 августа 2017 г., Новосибирск, Россия, 2017
- 23 съезд физиологического общества им.П.И.Павлова, 2017г., Воронеж
- Зая Российской конференции с международным участием. Дубна, Россия - 2019.
- VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы. Сборник тезисов Международного Конгресса. 2019,
- Школа-конференция молодых ученых и специалистов "Ильинские чтения 2020" (Москва, 22–24 декабря 2020 г.).

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

Заключение

Диссертационная работа Салеевой Д.В. на тему «Роль некодирующих РНК в активности генов при действии радиации в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*» 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 Салеевой Д.В. на тему «Роль искодоруких РНК в активности генов при действии радиации в нормальных и злокачественных клетках *in vivo* и *in vitro*» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских 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».

Присутствовало на заседании 11 чел., в том числе, доктор медицинских наук – 1 чел., доктор биологических наук – 3 чел., кандидат биологических наук – 5 чел., кандидат медицинских наук – 2 чел. Результаты голосования: «за» – единогласно, «против» – нет, «воздержалось» – нет. Решение принято единогласно (протокол № 1 от 10.03.2021).

Председатель Секции №1 Ученого совета ФГБУ
ГНЦ ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России
заведующий отделом экспериментальной
радиобиологии и радиационной медицины ФГБУ
ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
доктор биологических наук, профессор РАН

Осипов Андрей
Николаевич

Секретарь секции №1 ученого совета ФГБУ ГНЦ
ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России
Заведующая лабораторией радиационной
биофизики
кандидат биологических наук

Воробьева Наталья
Юрьевна

Подпись доктора медицинских наук, профессора
РАН Осипова А.Н. и кандидата биологических
наук Воробьевой Н.Ю. удостоверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА
России
кандидат медицинских наук



23.03.2021 Голобородько Евгений Владимирович