

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Савченко Ренаты Ренатовны на тему: «Роль генов *ADAMTS1* и *THBS1* в радиационно-индуцированном ответе соматических клеток человека на повреждение ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 Генетика (биологические науки)

Актуальность темы выполненной работы

Тема исследования относится к, безусловно, важному аспекту биологической и медицинской проблемы – поиску и изучению закономерностей и механизмов ответа соматических клеток человека на радиационно-индуцированное повреждение ДНК. Вызываемые ионизирующим излучением нарушения структуры ДНК приводят, как известно, к запуску целого каскада молекулярных систем, направленных на поддержание стабильности и воспроизводства генетического материала в клетке. В совокупности, неодинаковая способность разных клеток к репарации ДНК, обеспечению «штатного» функционирования контрольных точек клеточного цикла и запуску апоптоза составляет феномен индивидуальной радиочувствительности. Несмотря на достаточно долгую историю изучения, к настоящему времени раскрыты далеко не все механизмы, обеспечивающие это явление. В частности, актуальным является поиск и анализ значимых для формирования радиочувствительности генов, не имеющих прямого отношения к репарации ДНК, но выполняющих различные сигнальные функции, в частности генов, кодирующих отдельные компоненты внеклеточного матрикса. Всем этим сложным вопросам посвящена диссертация Р.Р. Савченко, в которой изучена роль генов *ADAMTS1* и *THBS1* в радиационно-индуцированном ответе соматических клеток человека на повреждение ДНК.

Таким образом, актуальность темы этого исследования определяется недостаточностью знаний о роли генов, кодирующих компоненты

внеклеточного матрикса и необходимостью поиска генетических маркеров, значимых для формирования феномена индивидуальной радиочувствительности.

Новизна исследования

Соискателем впервые обнаружен ряд эффектов, свидетельствующих о влиянии экспрессии генов *ADAMTS1* и *THBS1* на жизнеспособность клеток, частоту радиационно-индуцированных микроядер и уровень экспрессии других генов, в том числе связанных с клеточным ответом на ионизирующее облучение. Для достижения этой цели автором впервые были созданы модельные системы с нокаутом и сверхэкспрессией изучаемых генов. Использование созданных моделей позволило установить, что уровень экспрессии многих генов, связанных с клеточным ответом на облучение, изменяются на фоне нокаута *ADAMTS1* и *THBS1*. Важно, что некоторые из этих генов (конкретно 13) функционально связаны с генами, вовлеченными в репарацию ДНК, контроль клеточного цикла, апоптоз и сигнальный путь TGF β . Впервые также было установлено, что в клеточных линиях с нокаутом исследуемых генов значимо возрастает частота радиационно-индуцированных микроядер, являющаяся хорошо изученным маркером радиочувствительности. Важно, что последующее восстановление экспрессии *ADAMTS1* и *THBS1* в HeLa линиях с нокаутом приводит к снижению частоты радиационно-индуцированных микроядер до спонтанного уровня. Таким образом, результаты модельных экспериментов, проведенных соискателем, подтвердили заявленную гипотезу исследования и явились строгим доказательством того, что гены *ADAMTS1* и *THBS1* вовлечены в формирование радиационно-индуцированного клеточного ответа.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Полученные в анализируемой диссертационной работе результаты и сформулированные выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Результаты достаточно полно и ясно иллюстрированы

32 рисунками и 12 таблицами. Представленный в диссертации обзор литературы подробно затрагивает все ключевые работы по тематике исследований автора диссертации и отражает полноту его представлений о современных достижениях науки в этой области. Всего в работе цитируется 252 литературных источника, более 50% которых опубликовано за последние 10 лет. Сделанные выводы обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. Основные материалы диссертации опубликованы в 16 печатных работах (из них 3 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК РФ), а также в 11 тезисах. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации.

Автор диссертации демонстрирует уверенное владение статистическими методами обработки результатов экспериментов. Это обстоятельство существенно усиливает доверительное отношение к результатам работы.

Четкий и ясный в целом текст диссертации не свободен от отдельных недостатков. Ниже приводятся следующие замечания, которые носят редакционный и дискуссионный характер.

- 1). В разделе «Методология и методы научного исследования» указано, что исследование было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Следует указать дату и номер протокола заседания данного Комитета.
- 2). Утверждение автора о том, что «Высокая степень достоверности данных, полученных в ходе выполнения настоящей работы, обеспечивается применением современных клеточных технологий, использованием молекулярно-цитогенетических, молекулярно-генетических и биоинформационных методов исследования, а также статистической обработкой полученных результатов» (стр. 10) является спорным. Перечисленный набор методов действительно впечатляет, однако, сам факт их использования в работе априори не обеспечивает достоверности.

3). В разделе 2.5. рукописи приводится информация об использовании микроядерного теста, однако нет описания критериев самих микроядер.

4). Как правило, каждый вывод диссертационного исследования должен отражать решение соответствующей задачи. В этой связи, вероятно, есть смысл увеличить число постулируемых задач, т.к. выводы 2, 3 и 4 относятся к решению одной задачи – 2.

Приведенные замечания не влияют на общее исключительно благоприятное впечатление от диссертационной работы Р.Р. Савченко.

Значимость для науки и практики

Фундаментальные знания, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, расширяют имеющиеся представления о сложных молекулярных механизмах, обеспечивающих феномен индивидуальной радиочувствительности. Полученные соискателем новые сведения указывают на значимую в этих процессах роль отдельных генов, кодирующих компоненты внеклеточного матрикса.

Выявление компонентов внеклеточного матрикса, влияющих на радиационно-индуцированный клеточный ответ, может привести к обоснованию новых молекулярных мишеней, воздействие на которые могло бы изменять опухолевую радиочувствительность, повышая, тем самым, эффективность радиотерапии. В работе Р.Р. Савченко гены *ADAMTS1* и *THBS1* впервые были изучены как возможные экспрессионные биомаркеры индивидуальной радиочувствительности. По итогам экспериментов была установлена невозможность использования данных локусов в качестве самостоятельных экспрессионных маркеров радиочувствительности здоровых клеток организма. Однако в отношении злокачественно трансформированных клеток в работе была показана вовлеченность продуктов данных генов в формирование радиационно-индуцированного ответа, что выразилось в снижении способности клеток к формированию

колоний и изменению частоты радиационно-индуцированных микроядер на фоне нокаута и сверхэкспрессии.

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы при чтении лекционных курсов по генетике, радиобиологии и молекулярной биологии в ВУЗах, а также в ходе планирования и выполнения перспективных исследований в соответствующих профильных НИИ.

Заключение

Научно-исследовательская работа Савченко Ренаты Ренатовны на тему: «Роль генов *ADAMTS1* и *THBS1* в радиационно-индуцированном ответе соматических клеток человека на повреждение ДНК» является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача (проблема) по определению значимости функционирования генов *ADAMTS1* и *THBS1* в формировании радиационно-индуцированного клеточного ответа в соматических клетках человека, что имеет существенное значение для более полного понимания молекулярных механизмов формирования феномена индивидуальной радиочувствительности. Основные результаты, полученные в итоге диссертационного исследования Р.Р. Савченко, имеют важное теоретическое и практическое значение и могут быть в перспективе использованы как в медицинских целях, так и для регламентации санитарно-гигиенических норм радиационной безопасности. В работе диссертанта изложены научно обоснованные выводы, имеющие существенное значение для проблем радиобиологии и радиационной генетики.

Работа Р.Р. Савченко по актуальности изучаемой проблемы, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 №650, от 28.08.2017 №1024, от 01.10.2018

6