

“УТВЕРЖДАЮ”

директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, чл.-
корр. РАН, проф. Янковский Н.К.



20 октября 2014 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН о научно-практической ценности диссертации Сметаниной Надежды Михайловны на тему «Механизмы образования одонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК в лимфоцитах крови человека при воздействии УФА-излучения» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология

Актуальность темы диссертационного исследования.

Представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук диссертация посвящена исследованию актуальной проблемы – особенностям образования повреждений ДНК в лимфоцитах крови человека при воздействии длинноволнового УФ-излучения (УФА, 320–400 нм). В последнее время интерес к эффектам УФ-излучения этого диапазона повсеместно возрастает. Это связано как с терапией, используемой для лечения различных дерматологических заболеваний, так и с возможными последствиями частых посещений соляриев и пляжей. Данные эпидемиологических исследований свидетельствуют о наличии значительной корреляции между количеством посещений солярия и частотой возникновения меланомы у человека. Проникающая способность УФА-излучения достаточна для непосредственного воздействия на клетки периферической крови, в том числе и лимфоциты. Однако до сих пор прямые эксперименты по индукции УФА-излучением повреждений ДНК в лимфоцитах крови человека с получением дозовых зависимостей никем не проводились.

Научная новизна и практическая значимость.

В диссертации впервые проведён сравнительный анализ образования повреждений ДНК в лимфоцитах периферической крови человека при воздействии трёх различных повреждающих агентов. Показано, что гидроксил-радикал и синглетный кислород играют важную роль в образовании повреждений ДНК при воздействии 365 нм УФА-излучения. Впервые исследовано влияние нетрализаторов активных форм кислорода на выход повреждений ДНК в нуклеоидах лимфоцитов крови человека. Добавление нейтрализатора гидроксильного радикала – диметилсульфоксида или гасителя синглетного кислорода – азида натрия приводило к значительному снижению УФА-индуцированных повреждений ДНК, что свидетельствует о ведущей роли этих активных форм кислорода в формировании УФА-индуцированных односторонних разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК.

Впервые изучена зависимость количественного выхода односторонних разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК от структурной организации хроматина лимфоцитов периферической крови человека. Продемонстрировано, что инкубация клеток в гипертонических условиях приводит к увеличению выхода повреждений ДНК в УФА-облученных клетках. Эффект был наиболее значимым в присутствии 0,5 М Na⁺, что, по всей видимости, обусловлено диссоциацией гистона H1 и снижением конформационной защиты хроматина.

Предложенный автором метод ДНК-гало может использоваться в качестве экспресс-метода для оценки изменения количественного выхода односторонних разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК.

Достоверность полученных результатов

Работа выполнена на современном методическом уровне. Обзор литературы, постановка цели и задач исследования, его проведение и обсуждение результатов свидетельствуют о хорошей теоретической и методической подготовленности диссертанта. Выводы, сформулированных в диссертации, обеспечиваются качественным анализом научной литературы по изучаемой проблематике, применением адекватных статистических методов обработки данных.

Все описанные эффекты характеризуются исключительно высокой статистической значимостью.

Основные положения исследования доложены на Международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Автореферат и печатные работ полностью соответствуют материалам диссертации.

Таким образом, полученные Н.М. Сметаниной научные результаты и выводы являются обоснованными и достоверными.

Структура диссертации

Диссертация включает в себя введение, три главы, заключение, выводы, приложение и библиографический список литературы, состоящий из 195 источников (190 на иностранных языках). Основной текст диссертации изложен на 100 страницах, сопровождается 33 рисунками и 4 таблицами.

Во **введении** раскрыта актуальность темы исследования, определены цели и задачи исследования, сформулированы основные положения, обладающие научной новизной и выносимые на защиту.

Первая глава диссертации посвящена обзору литературы, касающейся основным механизмам генотоксического действия УФ-излучения. Обзор литературы затрагивает все ключевые работы по тематике исследований, хорошо читается и представляет самостоятельный интерес для широкого круга врачей, радиобиологов и генотоксикологов.

Во **второй главе** представлены экспериментальные дизайны исследований, направленные на решение задач диссертационной работы. Здесь следует отметить продуманность иллюстративного материала, существенно облегчающего чтение диссертации. В главе подробно описывается выборка, инструкции к используемым методам исследования и статистической обработке.

Основные экспериментальные результаты и их обсуждение представлены в **третьей главе**. С помощью двух методов – ДНК-комет и ДНК-гало – был проведён сравнительный анализ однонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК в лимфоцитах периферической крови человека при воздействии трёх различных генотоксических агентов. Количественный выход повреждений ДНК

после воздействия УФА-излучения в дозе 10 кДж/м² соответствовал количеству этих повреждений после воздействия рентгеновского излучения в дозе 1 Гр или перекиси водорода в концентрации 25 мкмоль/л. Далее было показано, что такие активные формы кислорода как гидроксил-радикал и синглетный кислород играют ведущую роль в формировании одонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК при воздействии УФА-излучения. Исследование влияния инкубации клеток в гипертонических растворах хлорида натрия на выход повреждений ДНК показало линейное увеличение выхода данных повреждений ДНК при воздействии УФА-излучения. Наиболее значимый эффект наблюдался при концентрации 0,5 М NaCl, в связи с чем было сделано предположение, что данный эффект обусловлен диссоциацией гистона H1 и снижением конформационной защиты хроматина.

Замечания

Принципиальных и редакционных замечаний к работе нет. Работа написана предельно ясно и хорошо иллюстрирована. Имеется замечание дискуссионного характера. Автор активно использует термин «скавенджеры» для обозначения нейтрализаторов (ловушек) активных форм кислорода. Этот термин и в англоязычной литературе не слишком распространен, а для русскоязычного читателя звучит совершенно непривычно.

Заключение

Диссертационная работа Сметаниной Н.М. на тему «Механизмы образования одонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК в лимфоцитах крови человека при воздействии УФА-излучения» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук Осипова А.Н., содержащей новое решение актуальной научной задачи – изучение механизмов образования одонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК при воздействии УФА-излучения, имеющей существенное значение для специальности 03.01.01 – радиобиологии. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Сметаниной Надежды Михайловны

соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, ее автор – Сметанина Надежда Михайловна – заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология.

Главный научный сотрудник лаб. экологической генетики ФГБУН ИОГен РАН

Доктор биологических наук

Сальникова Любовь Ефимовна

Отзыв утвержден на межлабораторном семинаре «Мутагенез и генетическая безопасность» ИОГен РАН 10.08.14 (протокол № 29).

Рук. семинара зам. директора ФГБУН ИОГен РАН

Доктор биологических наук, профессор

Абилев Серикбай Каримович

Подпись Л.Е. Сальниковой заверяю:

ученый секретарь ФГБУН ИОГен РАН

доктор биол. наук



Огаркова Ольга Александровна

«20» октября 2014 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3

Тел.: 499 135-62-13, E-mail: iogen@vigg.ru

Избранные работы сотрудников Института за последние 5 лет по теме, соответствующей данной диссертации

1. Рамайя Л.К., Орджоникидзе К.Г., Егорова Е.М., Рубанович А.В.

Генотоксические эффекты наночастиц серебра при воздействии на млекопитающих in vivo. // Acta Naturae, 2009, №3, с. 109-112

2. Орджоникидзе К.Г., Занадворова А.М., Абилов С.К. Изучение органоспецифичности генотоксического действия циклофосфана и диоксидаина методом щелочного гель-электрофореза. Генетика, 2011, т. 47, № 5, с. 1-3.
3. C.G. Ordzhonikidze, T.B. Demidova, E.Yu. Krysanov. Evaluation of Genetic Homeostasis in Animals at Different Stages of Ontogenesis in the Environment // Russian Journal of Developmental Biology 2014, published in Ontogenez, 2014, Vol. 45, No. 3, pp. 170–179.
4. Lyubov Salnikova, Anastasia Chumachenko, Olesya Belopolskaya, and Alexander Rubanovich. Correlations Between DNA Polymorphism and Frequencies of Gamma-Radiation Induced and Spontaneous Cytogenetic Damage // Health Phys. 2012 Jul;103(1):37-41.
5. Mughal SK, Myazin AE, Zhavoronkov LP, Rubanovich AV, Dubrova YE. The dose and dose-rate effects of paternal irradiation on transgenerational instability in mice: a radiotherapy connection // PLoS One. Jul 24, 2012 7(7).
6. Л.Е. Сальникова, А.Г. Чумаченко, О.Б. Белопольская, А.В. Рубанович. Генетические и цитогенетические предикторы радиочувствительности хромосом человека // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 3. С. 259–266.

Список работ сотрудников Института теме, диссертации заверяю:

ученый секретарь ФГБУН ИОГен РАН

доктор биол. наук



Огаркова Ольга Александровна