

ОТЗЫВ

**На автореферат диссертации Виноградовой Юлии Вячеславовны
«Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза
мышей после облучения ускоренными протонами и действия
метилнитрозомочевины» на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.01.01 – «Радиобиология»**

Актуальность работы

Актуальность диссертационной работы определяется в первую очередь необходимостью решения проблем современной клинической офтальмологии, поскольку значительный вклад в развитие патологии сетчатки глаза вносят генотоксические факторы внешней среды – радиация и химические вещества. Оценка величины повреждения и риска постлучевых осложнений при лучевой терапии глаз и мозга, особенно в сочетании химиотерапией принципиально важна для разработки средств профилактической терапии, препятствующей развитию дегенерации сетчатки глаза. Выполненные исследования чрезвычайно важны, так как при радиотерапии локальные дозы на органы головы человека могут превышать 50 Гр, а при протонной терапии меланомы глаза кумулятивная доза составляет 54-75 Гр. Изучение механизмов повреждения сетчатки также необходима при разработке методов предупреждения клинически значимых последствий повреждающего действия тяжелых заряженных частиц космического излучения при осуществлении длительных полетов вне магнитосферы Земли.

Научная новизна исследования и практическая значимость полученных результатов.

Анализ информации, представленный в Автореферате, свидетельствуют о том, что основные положения, выносимые на защиту, соответствуют полученным результатам, выявлены впервые или не противоречат известным опубликованным данным. При исследовании

морфологических изменений сетчатки глаза мышей при действии разных радиационных факторов (ускоренные протоны, γ -излучение ^{60}Co и метилнитрозомочевина) обнаружены различия в их цитотоксическом действии на сетчатку глаза, проведено исследование генома клеток зрелой сетчатки, изучена активность репарационной системы и оценено изменение функциональной активности сетчатки в ответ на действие повреждающих факторов. Авторы впервые исследовали динамику формирования разрывов ДНК и эффективность репарации, было отмечено повышение экспрессии генострессовых белков АТМ и Р53 в сетчатке глаза, стимулирующих репарацию ДНК и не вызывающих апоптоз поврежденных клеток. Было выявлено наличие генотоксического порога в ответе на воздействие. Авторы обнаружили повышение толерантности при ответе сетчатки глаза на последующее действие метилнитрозомочевина в ретинотоксической дозе. Был выявлен эффект радиационного гормезиса сетчатки глаза, который согласовался с возрастанием эффективности репарации двунитевых разрывов ДНК.

Результаты проведенного исследования имеют научно-практическое значение для решения проблемы повреждения и восстановления терминально дифференцированных клеток на примере клеток сетчатки глаза. Результаты по степени восстановления сетчатки глаза могут быть использованы для оптимизации радио- и химиотерапии опухолей головы, мозга, шеи и глаз. Полученные данные могут служить прогностическим показателем влияния условий космоса на здоровье человека при длительных космических полетах.

Структура диссертации

Диссертационная работа выполнена на 94 страницах, содержит введение, 4 главы, выводы, заключение. Состоит из 6 страниц, 32 рисунков, списка литературы из 95 наименований, из которых 87 – на английском языке. Автореферат содержит разделы: актуальность проблемы, цель и задачи, положения, выносимые на защиту, научная новизна, научно-практическая

значимость работы, апробация работы, материалы и методы исследования, выводы и список работ по диссертации.

Замечания

При общей положительной оценке проведенного исследования и важности полученных результатов по нашему мнению следует более конкретно сформулировать 1 и 2 положения, выносимые на защиту (какой ответ зрелой сетчатки выявлен и при каких условиях воздействия, когда и при каких дозах обнаружен адаптивный ответ). В выводах указать, какие из полученных новых данных могут быть использованы для разработки лечебно-профилактических рекомендаций при нежелательных побочных эффектах радиотерапии у человека.

Заключение

Диссертационная работа Виноградовой Юлии Вячеславовны на тему «Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 «Радиобиология», является самостоятельным научно-практическим исследованием оценки повреждающего действия протонов высоких энергий и метилнитрозомочевины на структуру ДНК в сетчатке и функциональную активность сетчатки глаза мышей, а также способности сетчатки к восстановлению после воздействия указанных генотоксических агентов.

Диссертационная работа Виноградовой Ю.В. соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Ю.В. Виноградова заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук.

Зав. радиобиологическим отделом
Федерального государственного унитарного
предприятия Южно-Уральский институт биофизики
Федерального медико-биологического агентства,
кандидат медицинских наук, доцент

Е.Н. Кириллова

Подпись зав. радиобиологическим отделом Е.Н. Кирилловой заверяю

Начальник группы учета кадров

С.Ю. Круглова



Отзыв

на автореферат диссертационной работы Ю.В. Виноградовой “Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология

Диссертационная работа Ю.В. Виноградовой посвящена изучению процессов повреждения и регенерации сетчатки при действии генотоксических факторов трех типов – облучения протонами, введения противоопухолевого препарата метилнитрозомочевины и совместного действия этих факторов. Важно, что действию протонов и других ускоренных частиц подвергаются не только космонавты, но и онкологические больные при лучевой терапии. Проблема изучения повреждения неопухолевых тканей, включая сетчатку и головной мозг, как при действии облучения, так и при сочетании облучения и химиотерапии крайне важна для прогнозирования и понимания механизмов развития отдаленных последствий. Поэтому тема диссертационной работы Ю.В. Виноградовой, безусловно, является актуальной.

Целью диссертационной работы Ю.В. Виноградовой явилась оценка повреждающего действия протонов высоких энергий и метилнитрозомочевины на структуру ДНК в сетчатке, на функциональную активность сетчатки глаза мышей и оценка способности сетчатки к восстановлению после воздействия этих генотоксических факторов.

Для ее достижения в процессе выполнения диссертационной работы, как следует из автореферата, автором были изучены морфологические изменения сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами (150 МэВ) и после действия γ -излучения и метилнитрозомочевины в разных дозах, различающихся по уровню цитотоксической активности в отношении сетчатки. После действия изучаемых факторов и их комбинации были изучены повреждения генома клеток сетчатки глаза и активность процессов репарации ДНК в клетках сетчатки, а также оценивались изменения функциональной активности сетчатки и ее способность к восстановлению.

В специальных экспериментах автором была исследована роль глиальных клеток Мюллера в повреждении и восстановлении сетчатки глаза мышей после воздействия изучаемых факторов. Это глиальные клетки, которые располагаются в межклеточном пространстве и выполняют опорную, буферную, трофическую функции и, по-видимому, играют важную роль в процессах регенерации сетчатки.

В процессе выполнения работы автором использован широкий арсенал современных молекулярно-биологических, цитологических и электрофизиологических

методов, что позволило получить всесторонне аргументированные результаты и выводы.

В результате проведенных экспериментов Ю.В. Виноградовой убедительно показано следующее. Показано, что в сетчатке глаза, в ответ на повреждения ДНК после облучения возрастает уровень экспрессии белков-маркеров генотоксического стресса АТМ и р53. Показано, что при действии ускоренных протонов в дозах менее 15 Гр происходит восстановление повреждений ДНК клеток сетчатки, ее структуры и функциональной активности. Необратимые изменения при этом типе облучения обнаружены при дозах более 25 Гр, а при действии метилнитрозомочевины - после ее введения в дозе 70 мг/кг. Автором обнаружено адаптирующее действие метилнитрозомочевины в нетоксичной дозе к последующему действию высоких доз, что сопровождается снижением уровня апоптоза и гибели фоторецепторных клеток по сравнению с однократным воздействием этого препарата в токсической дозе. Аналогичный адаптирующий эффект обнаружен при облучении сетчатки протонами в дозе 1 Гр. В сетчатке глаза автором описана активация глиальных клеток Мюллера в ответ на действие метилнитрозомочевины (70 мг/кг).

В неповрежденной сетчатке глаза обнаружены особенности структуры ДНК в виде большого количества щелоче-лабильных сайтов. Автор называет эти особенности структуры ДНК спонтанными повреждениями, хотя в действительности эти особенности скорее не являются собственно повреждениями ДНК, а отражают высокую функциональную активность генома клеток сетчатки, сопровождающуюся появлением большого количества щелоче-лабильных сайтов в области транскрипционных вилок.

Совокупность полученных Ю.В. Виноградовой результатов вносит значительный вклад в понимание процессов повреждения и восстановления сетчатки глаза при действии радиационных и химических генотоксических факторов.

Сделанные автором выводы логично вытекают из представленных в автореферате данных.

По автореферату имеется одно замечание. Оно касается первого вывода, в котором отсутствуют сведения о полученных новых данных, а только содержится информация о типах проведенных исследований.

Сделанное замечание не носит принципиального характера и не снижает высокой значимости выполненного исследования.

Анализ автореферата диссертационного исследования Ю.В. Виноградовой позволяет заключить, что оно является самостоятельной, законченной научно-исследовательской работой.

Материалы диссертационного исследования широко представлены в рекомендованных ВАК Российской Федерации отечественных научных изданиях.

Все сказанное выше позволяет заключить, что судя по автореферату, диссертационная работа Ю.В. Виноградовой соответствует всем требованиям пункта 8 Положения ВАК Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.01 - радиобиология.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории клеточной биологии
и молекулярной медицины
Курчатовского комплекса
НБИКС-технологий
Национальный исследовательский
центр "Курчатовский институт"
профессор, доктор биологических наук

Москалева Елизавета
Юрьевна

e-mail: moskalevaey@mail.ru
Телефон: +7(499)1967306
Почтовый адрес организации:
123182 Россия, Москва,
пл. Академика Курчатова, д. 1
« 2 » сентября 2015 г.

Подпись Е.Ю. Москалевой заверяю
Заместитель директора по научной
работе НИЦ "Курчатовский институт"



Штромбах Ярослав
Игоревич

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Виноградовой Юлии Вячеславовны
«Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза
мышей после облучения ускоренными протонами и действия
метилнитрозомочевины» на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология

Диссертация Виноградовой Ю.В. посвящена оценке повреждающего действия протонов высоких энергий и метилнитрозомочевины на структуру ДНК в сетчатке глаза мышей и изучению способности сетчатки к восстановлению после воздействия этих генотоксических агентов.

В работе впервые исследована динамика формирования разрывов ДНК и их последующая репарация *in vivo* в сетчатке глаза мышей, облученных протонами высоких энергий и гамма-квантами ^{60}Co . Выявлено, что ответной реакцией сетчатки глаза мышей на генотоксический стресс, вызванный как облучением, так и метилирующим агентом метилнитрозомочевинной, является высокий генотоксический порог для этих видов воздействия. Показано, что предварительное введение мышам метилнитрозомочевины в нетоксической дозе повышает толерантность сетчатки глаза к последующему действию агента. Выявлена способность зрелой сетчатки глаза мышей к клеточному и функциональному восстановлению и возможное участие глиальных клеток Мюллера в этих процессах. Важным является то, что полученные автором результаты по восстановлению и гормезису сетчатки глаза могут быть использованы для оптимизации радио- и химиотерапии опухолей головы, мозга, шеи и глаз.

Исследование выполнено на высоком научном уровне с привлечением современных методов исследования. Выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют целям и задачам. Полученные автором результаты достаточно полно представлены в печати (4 статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК, 1 коллективная монография).

Диссертационная работа ««Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными

протонами и действия метилнитрозомочевины»» по своей теоретической и практической значимости, новизне полученных данных полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология.

доктор биологических наук,
зав. лаборатории радиоэкологии
животных

Отдела радиоэкологии

ФГБУН «Институт биологии»

Коми НЦ УрО РАН



Кудяшева Алевтина Григорьевна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Отдела радиоэкологии ФГБУН

«Институт биологии»

Коми НЦ УрО РАН



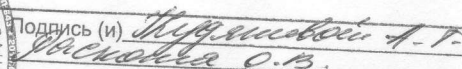
Раскоша Оксана Вениаминовна

5.08.2015

167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,

Тел. (8212) 430478, raskosha@ib.komisc.ru



Подпись (и)	
завещаю.	
Ведущий документовед Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук	
Г.А. Литвиненко	
«07» августа	20 15 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Виноградовой Юлии Вячеславовны
«Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после
облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.01 – радиобиология.

В работе Ю.В. Виноградовой исследована регенерационная способность клеток сетчатки после радиационных и химических повреждений. Данная область исследований является практически значимой для прогнозирования отдаленных последствий радио- и химиотерапии.

Автором использован широкий круг адекватных методик, позволяющих оценивать, как собственно повреждение клеток на ядерно-генетическом уровне, так и последующие регенеративные процессы. Приведенные в автореферате данные свидетельствуют о том, что диссертант профессионально владеет современными биохимическими, гистологическими, электрофизиологическими и др. методами.

Ю.В. Виноградовой проведено подробное многопараметрическое исследование клеточных и субклеточных механизмов ретинотоксического действия облучения и метилнитрозомочевины. Наиболее интересным новым практически важным результатом, полученным автором является демонстрация того, что предварительные воздействия исследованных повреждающих факторов в низких нетоксичных дозах смягчают последующие повреждающие эффекты радио- и химиотерапии. Отдельной позитивной оценки заслуживает создание диссертантом экспериментальной животной модели МНМ-индуцированной дегенерации сетчатки, позволяющей тестировать лекарственные вещества препятствующие развитию ретинопатий.

Материалы диссертации апробированы более чем на десяти профильных отечественных конференциях, а основные результаты обобщены в семи научных статьях, четыре из которых опубликованы в рецензируемых журналах списка ВАК.

В целом, диссертационная работа «Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины» представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, обладает безусловной актуальностью, новизной и практической значимостью и соответствует требованиям п.9. Положения «О порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сама диссертант заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология.

По специальности, близкой к теме диссертации (03.00.02) я имею 160 работ, из них наиболее близкие по теме:

1. Бриндикова Т.А., Труханов К.А., Зак П.П. и др. Действие тяжелых заряженных частиц на родопсин и изолированную сетчатку глаза. // ДАН. 2001. Т. 377. № 5. С. 715 - 717.
2. Зак П.П., Зыкова А.В., Трофимова Н.Н. и др. Экспериментальная модель для исследования механизмов возрастных и дегенеративных изменений в сетчатке глаза человека (японский перепел *C. japonica*). // ДАН. 2010. Т. 434. № 2. С. 272-274.
3. Зак П.П., Островский М.А. Потенциальная опасность светодиодного освещения для глаз детей и подростков. // Светотехника, 2012, №3, С.5-7.

Д.б.н., профессор,
Ведущий научный сотрудник ИБХФ РАН



Зак П.П.

119994, Москва, ул. Косыгина, д.4, тел. +7 9169494893



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Виноградовой Юлии Вячеславовны «Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 - радиобиология.

Диссертационная работа Виноградовой Юлии Вячеславовны посвящена исследованию важной проблемы - зависимость морфологических и функциональных изменений сетчатки глаза мышей при воздействии генотоксических агентов физической и химической природы в различных дозах. Т.к. основу зрелой сетчатки млекопитающих составляют терминально дифференцированные клетки, утратившие свой регенеративный потенциал, изучение вопросов повреждения и восстановления таких тканей представляет интерес для фундаментальной науки.

Для современной экспериментальной и клинической офтальмологии до сих пор невыясненной проблемой является понимание механизмов патогенеза развития заболеваний сетчатки. Сетчатка, являясь периферической частью зрительного анализатора, имеет сложную клеточную структуру. В механизмах радиационно-индуцированного повреждения сетчатки остается невыясненной роль и пути апоптоза отдельных типов клеток в развитии последующих патологических изменений. Исследование процесса радиационно-индуцированного повреждения сетчатки является актуальной задачей для радиобиологии и физиологии зрения. Изучение механизмов действия различных видов ионизирующего излучения на сетчатку глаза принципиально важно как для оценки рисков постлучевых осложнений, возникающих в ходе лучевой терапии различных заболеваний глаза, так и при различных радиационных ситуациях, учитывая, что клинически значимые повреждения сетчатки могут проявляться не сразу, а спустя какой-то период времени.

Научная новизна полученных в работе результатов определяется тем, что впервые была проведена комплексная оценка существования генотоксического порога зрелой сетчатки и ее способность к структурному и функциональному восстановлению в ответ на облучение протонами и воздействие метилнитрозомочевины. Доказано, что в ответ на повреждение ДНК после облучения возрастает экспрессия генострессовых белков 2-х видов в сетчатке глаза, которые стимулируют репарацию ДНК и не вызывают апоптоза поврежденных клеток, что было бы губительно для органа в целом. По результатам экспериментальной работы установлена пороговая доза облучения ускоренными

протонами, ниже которой происходит восстановление поврежденного генома, а также доза облучения ускоренными протонами и доза введения МНМ, превышение которых ведет к утрате функциональной активности клеток сетчатки. В механизмах радиационно-индуцированного повреждения сетчатки доказано влияние активации отдельных видов клеток (в частности, глиальных клеток Мюллера) в развитии последующих патологических изменений.

Практическая значимость диссертации состоит в получении данных о восстановлении и гормезисе сетчатки глаза, что может помочь оптимизации схем лечения радио – и химиотерапии опухолей в области глазного яблока и головы, а также модель исследователя может быть использована для оценки эффективности разрабатываемых медицинских препаратов, препятствующих дегенерации сетчатки.

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, что позволило автору сформулировать 6 выводов и 3 практические рекомендации, логично вытекающие из представленных фактических материалов. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе, 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней.

Принципиальных замечаний и вопросов по работе нет. Представленные в автореферате материалы позволяют считать, что автор решил поставленные задачи и полученными результатами собственных исследований убедительно доказал основные положения, выносимые на защиту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Судя по автореферату, диссертация Виноградовой Ю. В. «Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей важное значение для радиобиологии и физиологии зрения – исследована зависимость морфологических и функциональных изменений сетчатки глаза мышей при воздействии генотоксических агентов физической и химической природы в различных дозах. По актуальности темы, научной новизне и практической значимости полученных результатов рецензируемая диссертация может рассматриваться как научная работа, полностью соответствующая требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. №842,

предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации - Виноградова Юлия Вячеславовна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология.

Научный сотрудник эпидемиологической лаборатории ФГБУН «Уральский научно-практический Центр радиационной медицины» Федерального медико-биологического агентства, кандидат медицинских наук Микрюкова Людмила Дмитриевна

454076, г. Челябинск, ул. Воровского, дом 68а;

Тел. (351)232-79-14; факс (351)232-79-13;

E-mail: mik@urcrm.ru

«16» июля 2015 г.

Подпись Л.Д. Микрюковой заверяю:

Ученый секретарь ФГБУН

УНПЦ РМ ФМБА России

канд. биол. наук



Л.Д. Микрюкова —

С.А. Большакова

С.А. Большакова