

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию

Кузьминой Нины Станиславовны на тему: «Изучение отдаленных генетических и эпигенетических нарушений у облученных лиц и их потомков», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

### **Актуальность темы выполненной работы**

Проблема стабильности и изменчивости генома в результате воздействия ионизирующей радиации до настоящего времени остается предметом интенсивных исследований и активной научной полемики. Во многом нерешенным и, в этой связи, весьма актуальным направлением исследований, является проблема оценки отдаленных генетических и эпигенетических нарушений у облученных людей и их потомков, которую следует изучать не только с позиций классической и молекулярной цитогенетики, но и с учетом влияния различных компонентов эпигенетического фона. Всем этим сложным вопросам посвящена диссертация Н.С. Кузьминой, в которой изучены различные аспекты комплексной проблемы по оценке отдаленных генетических и эпигенетических повреждений у людей, подверженных радиационному воздействию на разных стадиях онтогенеза, а также аналогичные процессы у их потомков. Решение этой проблемы важно не только с позиций необходимости расширения наших представлений о фундаментальных закономерностях действия радиации на живые системы, но и с точки зрения возможностей практического использования полученных знаний при оценке реальных рисков облучения и прогнозировании ряда мультифакторных патологий.

Известно, что до настоящего времени остается проблема неоднозначности популяционной оценки радиационно-индуцированных генетических эффектов в соматических клетках человека в отдаленный период после облучения и трансгенерационных эффектов у потомков облученных родителей. Это связано с разным характером радиационного воздействия (вид радиации, доза, мощность дозы), промежутком времени между экспонированием и обследованием, информативностью изучаемых показателей, репрезентативностью выборок и адекватностью контрольных когорт. Кроме того к настоящему времени практически отсутствуют исследования, посвященные изучению мутагенных

эффектов облучения в зависимости от стадии онтогенеза, на которую пришлось воздействие радиационного фактора. Еще одной важной и нерешенной пока задачей изучения отдаленных эффектов радиационного воздействия является поиск маркеров перенесенного облучения, которые могут дать интегральную оценку состояния здоровья индивида. Поэтому, изучение закономерностей индукции эпигенетических изменений в организме, подвергшемся радиационному воздействию, является еще одним актуальным аспектом оценки отдаленных последствий облучения.

Резюмируя, следует подчеркнуть, что все перечисленные выше нерешенные проблемы определяют в целом несомненную актуальность представленного докторской диссертации исследования.

**Диссертационная работа** изложена на 385 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, шести глав, отражающих результаты собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы из 589 наименований, списка собственных работ, опубликованных по теме докторской диссертации (включает 23 оригинальные статьи, 11 глав в книгах и монографиях, статей в сборниках трудов конференций и 35 тезисов докладов) и приложения. Текст рукописи дополнен иллюстративным материалом в виде 41рисунка и 35 таблиц, облегчающим восприятие докторской диссертации.

### **Новизна исследования**

В докторской диссертации Н.С. Кузьминой впервые сформулирована и экспериментально проверена гипотеза о том, что в облученном организме в отдаленный период после перенесенного воздействия наблюдается широкий спектр генетических/эпигенетических нарушений, а также имеет место сопряженность между исследованными показателями.

Соискателем впервые обнаружен ряд закономерностей, позволяющих оценить последствия радиационного воздействия в малых дозах не только у индивидов, подвергшихся облучению в критические периоды детства, но и у их детей; выявить отличительные особенности, характерные для индукции геномной нестабильности в организме необлученных потомков, по сравнению с отцами, перенесшими непосредственное радиационное воздействие. Среди других конкретных

результатов работы, имеющих самостоятельную ценность и новизну, следует также отметить, что автором впервые были определены частоты микросателлитных мутаций у детей профессионалов-атомщиков, подвергшихся воздействию трития и его окиси. Увеличение частоты данных мутаций в потомстве свидетельствует о генотоксических последствиях хронического действия  $\beta$ -излучения этого радионуклида на клетки генеративной системы организма человека. В качестве нового аспекта генотоксического воздействия радиации на разных выборках облученных лиц изучено гиперметилирование CpG-островков промоторов ряда генов основных защитных систем клетки, а также показаны закономерности его индукции в нормальных лейкоцитах крови.

Таким образом, соискателем впервые предпринят комплексный подход к оценке состояния генома/эпигенома клеток людей, получивших пролонгированное облучение, а также генетические и эпигенетические эффекты, способные к трансгенерационному переходу.

**Практическая значимость.** Полученные соискателем новые сведения указывают на необходимость включения комплексной оценки состояния генома с учетом таких эпигенетических показателей, как гиперметилирование CpG-островков промоторов генов, участвующих в основных защитных функциях клетки, в систему мониторинга состояния здоровья людей, подвергшихся облучению в широком диапазоне доз.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.**

Полученные в анализируемой диссертационной работе результаты и сформулированные выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Тщательно составленный обзор литературы достаточно подробно затрагивает все ключевые работы по тематике исследований автора диссертации и отражает полноту его представлений о современных достижениях науки в этой области. Сделанные выводы обоснованы и логически вытекают из результатов исследования.

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 дискуссионный и редакционный характер.

1). В качестве маркеров генотоксического эффекта воздействия облучения в соматических клетках человека автор выбрал проверенный и надежный цитогенетический тест по учету хромосомных aberrаций хромосом в лейкоцитах периферической крови. Следует, однако, заметить, что данный метод позволяет регистрировать только структурные повреждения хромосом, но не дает возможности оценить анеугенные эффекты от воздействия радиации. Использование микроядерного теста с одновременным мечением центромерных участков специфическими зондами (панцентромерный FISH) хотя бы в части экспериментов могло бы заполнить эту брешь.

2. В разделе главы Материалы и методы (2.2.2. Методика анализа АХ) на 132 стр. указано: «К aberrациям хромосомного типа относили ацентрические парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции, не сопровождающиеся ацентрическими фрагментами (простые aberrации), а также дицентрики, центрические и ацентрические кольца, симметричные транслокации, инверсии (сложные обменные перестройки)». По мнению оппонента вместо терминов «симметричные транслокации» и «инверсии» уместнее было бы использовать термин «атипичные моноцентрики». Рутинный вариант окрашивания, использованный автором при подготовке цитогенетических препаратов, не позволяет точно определять точки разрыва хромосом в случае сложных обменных перестроек, а также определять реципрокность наблюдаемых обменов.

3. Несмотря на отсутствие в разделе «Методы» описания учета мутаций геномного типа в «Результатах» описываются анеуплоидии и полиплоидии (например, на рис.9, 10 и др.). Непонятно, при этом, какие критерии оценки были использованы.

Приведенные замечания не влияют на общее исключительно благоприятное впечатление от диссертационной работы Н.С. Кузьминой.

### **Значимость для науки и практики**

Результаты диссертационной работы существенно расширяют имеющиеся представления о механизмах поддержания целостности и стабильности генома соматических клеток человека. Полученные соискателем новые сведения

указывают на необходимость учета межиндивидуальной вариабельности по эпигенетическим маркерам при проведении различных процедур, связанных с воздействием мутагенных (в т.ч., радиационных) факторов на человека. Фундаментальные знания, полученные в ходе выполнения исследования, следует в дальнейшем использовать в системе персонализированного прогнозирования возникновения хромосомных нарушений в клетках человека на основе анализа различных компонентов эпигенетического фона и экспрессии, связанных с ними генов. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы при чтении лекционных курсов по генетике и молекулярной биологии в ВУЗах, а также в ходе планирования и выполнения перспективных исследований в соответствующих профильных НИИ.

### **Заключение**

Научно-исследовательская работа Кузьминой Нины Станиславовны «Изучение отдаленных генетических и эпигенетических нарушений у облученных лиц и их потомков» является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача (проблема) по комплексной многопараметровой оценке состояния генома в клетках организма человека спустя годы и десятилетия после перенесенного радиационного воздействия, трансгенерационной нестабильности у его потомков и выяснению закономерностей индукции гиперметилирования CpG-островков промоторов ряда генов - нового аспекта генотоксического действия ионизирующих излучений. Полученные данные существенно расширяют представления об отдаленных молекулярно-клеточных эффектах пролонгированного облучения в широком диапазоне доз для настоящих и будущих поколений, имеют большое фундаментальное значение, а также практическую значимость в превентивной диагностике радиационно-индуцированной патологии и разработке системы лечебно-профилактических мероприятий в рассматриваемых контингентах лиц. Основные результаты, полученные в итоге диссертационного исследования Н.С. Кузьминой, 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 Н.С. Кузьминой по актуальности изучаемой проблемы, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов отвечает требованиям пп. 9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016г «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней» и постановлений Правительства РФ №1024 от 28 августа 2017г, №1168 от 1 октября 2018г и №426 от 20 марта 2021г), а автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.07 - генетика.

Заведующий кафедрой физиологии и генетики  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
профессионального образования  
«Кемеровский государственный  
университет»  
Доктор биологических наук, профессор

02.06.2021

В.Г. Дружинин

Адрес: 650000, Кемерово, Красная, 6  
Тел. +7 9236119838, e-mail [druzhinin\\_vladim@mail.ru](mailto:druzhinin_vladim@mail.ru)

Подпись В.Г. Дружинина заверяю,

Ученый секретарь Федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Кемеровский  
государственный университет»,  
кандидат химических наук



Е.А. Баннова