

Голові разової спеціалізованої вченої ради
Інституту ядерних досліджень НАН України
доктору біологічних наук
завідувачу відділу радіобіології та радіоекології
Інституту ядерних досліджень НАН України
А.І. Липській

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

докторамедичних наук, завідувачки лабораторії цитогенетики відділу медичної
генетики Інституту експериментальної радіології Державної установи
«Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології
Національної академії медичних наук України»,

Шеметун Олени Володимирівни

на дисертацію

Курочкиної Віти Анатоліївни

на тему: « Цитогенетична ефективність радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах
периферичної крові людини в модельних експериментах *in vitro*»
поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії
у галузі знань “09 Біологія”
за спеціальністю “091 Біологія та біохімія”

Актуальність обраної теми дисертаційної роботи

Цезій-137 є радіоізотопом, надходження якого у навколишнє середовище зумовлюється діяльністю людини – випробовуванням ядерної зброї та аваріями на об'єктах ядерно-промислового комплексу. В умовах війни в Україні зростає загроза виникнення аварійних ситуацій на об'єктах ядерної енергетики, що несе загрозу неконтрольованого радіаційного опромінення населення. Метод

біологічної індикації і оцінки дози з використанням цитогенетичних маркерів дії радіації у лімфоцитах периферичної крові людини рекомендований МАГАТЕ для застосування у випадках опромінення за відсутності фізичної дозиметрії чи з метою підтвердження її результатів. Разом з тим, для визначення доз опромінення осіб, які постраждали в аваріях з джерелом ^{137}Cs застосовують калібрувальні залежності «доза-ефект», отримані за гострого гамма опромінення крові джерелом ^{60}Co , що зумовлено відсутністю таких для ^{137}Cs . Зважаючи на викладене, тема дисертаційної роботи В.А.Курочкиної, що присвячена встановленню цитогенетичної ефективності радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах периферичної крові людини в модельних експериментах *in vitro*, є **актуальною** як з наукової, так і з практичної точки зору та сприятиме вдосконаленню методів біологічної дозиметрії зовнішнього і внутрішнього опромінення людини.

Оцінка структури дисертації, її наукового рівня та обґрунтованості/достовірності положень, що в ній сформульовані

Дисертаційна робота викладена на 130 сторінках машинописного тексту (з них 112 – основного тексту), містить 19 таблиць, ілюстрована 14 рисунками і має традиційну структуру: анотацію; вступ; огляд літератури; опис матеріалів й методів досліджень; розділ результатів власних досліджень та їх обговорення; розділ аналізу та узагальнення результатів дослідження; висновки; список використаних літературних джерел (містить 177 посилань, з яких 26 кирилицею і 151 латиницею) та один додаток.

У вступі **обґрунтовано вибір теми дослідження**, вказано на зв'язок роботи з виконанням двох планових науково-дослідних робіт відділу радіобіології і радіоекології Інституту ядерних досліджень Національної академії наук України («Дослідження віддалених радіоекологічних та біологічних наслідків аварійного радіонуклідного забруднення навколишнього середовища», 2016 – 2019 рр, № держреєстрації 0114U004842; «Дослідження

ефектів іонізуючого випромінювання в діапазоні малих доз у природних умовах та модельних експериментах», 2020 - 2023 рр, № держреєстрації 0119U101725); викладено мету та п'ять завдань досліджень; визначено об'єкт та предмет дослідження; охарактеризовано наукову новизну та практичне значення результатів роботи; висвітлено особистий внесок здобувача в науковому дослідженні; перераховано наукові форуми, де доповідались та обговорювались результати дисертації (чотири щорічні наукові конференції Інституту ядерних досліджень НАН України, дві міжнародні науково-практичні конференції, два з'їзди Радіобіологічного товариства України).

В першому розділі дисертаційної роботи наведено огляд наукової літератури стосовно проблеми проведення цитогенетичної дозиметрії у випадках радіаційних інцидентів з надходженням радіоіотопів цезію 137 у навколишнє середовище; ядерно-фізичних характеристик цього радіоіотопу, шляхів потрапляння та кінетики в організмі людини; акцентовано увагу на цитогенетичних показниках при визначенні зовнішнього іонізуючого опромінення організму людини за радіаційних інцидентів з радіоцезієм; проаналізовано особливості цитогенетичної дозиметрії за внутрішнього опромінення радіоцезієм та визначено наукові проблеми, що потребують подальшого вирішення. Розділ дисертації свідчить про знання і критичний аналіз автором наукової літератури щодо сучасного рівня досліджень в галузі радіаційної цитогенетики.

У другому розділі «Матеріали й методи досліджень» вказано, що робота виконана на лімфоцитах периферичної крові умовно здорового донора чоловічої статі, детально описано умови гострого, пролонгованого зовнішнього/внутрішнього опромінення зразків крові джерелом ^{137}Cs та їх дозиметричний супровід. Описано використані автором методи цитогенетичних досліджень, що є класичними. Наведено статистичні методи обробки отриманих результатів та вказано, що при виконанні роботи проаналізовано 29 930 метафаз.

Представлена інформація вказує на те, що **робота проведена на хорошому методичному рівні**, а дисертант добре володіє методами цитогенетичного та статистичного аналізу, які було застосовано при її виконанні.

У розділі 3 дисертаційної роботи представлено результати власних досліджень, їх обговорення та порівняння з даними інших дослідників. Автором було встановлено радіаційно-індукований цитогенетичний ефект в лімфоцитах периферичної крові людини внаслідок гострого зовнішнього γ опромінення ^{137}Cs у діапазоні доз від 0,00 до 1,00 Гр у семи точках досліду: 0,00, 0,09, 0,19, 0,30, 0,58, 0,69, 1,00 Гр. Утворення дицентриків і центричних кілець із супровідним парним фрагментом мало лінійно-квадратичну залежність від поглиненої дози та описувалось рівнянням $Y = (0,0003 \pm 0,0003) + (0,0307 \pm 0,0111) \cdot D + (0,0592 \pm 0,0162)D^2$. Частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась з підвищенням дози гамма-опромінення, тоді як зміна рівня аберацій хроматидного типу не мала такої залежності. Важливим є результат щодо мінімальної статистично значимої дози гострого γ -опромінення джерелом ^{137}Cs , що може бути визначена за частотою нестабільних хромосомних обмінів у лімфоцитах крові людини при аналізі 1000 клітин і виявленні трьох обмінів із фрагментом, яка становить 0,09 Гр. Власна калібрувальна крива залежності виходу нестабільних хромосомних обмінів від дози опромінення ^{137}Cs апробована при проведенні біологічної дозиметрії у підрядного персоналу ДСП ЧАЕС – визначені «біологічні» дози перевищували дані фізичної дозиметрії і ліміти доз професійного опромінення.

Дослідження, представлені в дисертації, **виконані коректно на високому науковому рівні**, про що свідчить виконання роботи в Інституті ядерних досліджень НАН України, який має відповідну матеріально-технічну базу; залучення до організаційного забезпечення експериментів в частині зовнішнього опромінення зразків крові ^{137}Cs та їх дозиметричного супроводу кваліфікованих фахівців-фізиків; чітке дотримання методичних рекомендацій

МАГАТЕ щодо проведення біологічної дозиметрії з застосуванням цитогенетичного аналізу лімфоцитів крові людини. Вказане дозволило вперше розробити і апробувати експериментальні моделі для пролонгованого зовнішнього і/або внутрішнього опромінення зразків крові ізотопом ^{137}Cs у дозах до 0,54 Гр *in vitro* за умов наближених до *in vivo*. Показано, що за пролонгованого зовнішнього опромінення крові людини ^{137}Cs частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась в лінійній залежності від дози зовнішнього пролонгованого опромінення. Частота аберацій хроматидного типу перевищувала спонтанну, проте реєструвалась на однаковому рівні.

Унікальними є отримані результати експериментального дослідження внутрішнього опромінення ^{137}Cs лімфоцитів периферичної крові людини. Встановлена його більша у 2,9 рази ефективність порівняно із зовнішнім впливом за частотою нестабільних обмінів із супровідним фрагментом, і у 2,4 рази за рівнем вільних ацентриків. Показано, що цитогенетична ефективність внутрішнього опромінення лімфоцитів крові людини ^{137}Cs *in vitro* зумовлюється сумарною дією радіоізопа на клітини під час інкубації крові з розчином ^{137}Cs (основна доза) і під час їх культивування (20,44-23,89% від основної дози).

Достовірність і репрезентативність отриманих результатів забезпечена коректним підходом до планування експериментів, використанням сучасного, адекватного меті і завданням методу цитогенетичних досліджень, достатньою кількістю проаналізованих метафаз на точку досліду, загальним великим обсягом цитогенетичної роботи, при виконанні якої було проаналізовано 29 930 клітин.

Розділ 4 дисертаційної роботи «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» присвячено аналізу, узагальненню результатів дослідження цитогенетичної ефективності радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах

периферичної крові людини в модельних експериментах *in vitro* та їх обговоренню порівняно з даними досліджень інших авторів.

Висновки дисертації обґрунтовані, вони закономірно впливають з проведених досліджень, узагальнюють отримані результати, відповідають меті та завданням дисертаційної роботи.

Наукова новизна одержаних результатів

Отримані в результаті виконання роботи результати є новими. Вперше розроблено експериментальні моделі пролонгованого зовнішнього і внутрішнього опромінення зразків крові людини ^{137}Cs в дозах до 0,54 Гр за умов наближених до *in vivo*. Вперше розроблено моделі розрахунків для отримання запланованих та оцінки фактично отриманих доз зовнішнього і внутрішнього пролонгованого опромінення зразків крові людини в експериментах *in vitro*. Вперше виявлено, що з підвищенням поглиненої дози за пролонгованого внутрішнього опромінення крові ^{137}Cs в лімфоцитах лінійно збільшується частота аберацій і хромосомного, і хроматидного типів. Встановлено більшу цитогенетичну ефективність пролонгованого внутрішнього опромінення ^{137}Cs порівняно із зовнішнім. Вперше для коректного порівняння ефективності внутрішнього і зовнішнього опромінення ^{137}Cs за рівнем пошкоджень хромосом у лімфоцитах крові людини запропоновано внести поправку на вихід аберацій, індукованих внутрішньоклітинним вмістом радіозотопа під час культивування лімфоцитів.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.

Отримані при виконанні дисертаційної роботи результати щодо індукції радіоізотопом цезію-137 цитогенетичних ефектів у лімфоцитах периферичної крові людини при гострому/пролонгованому зовнішньому і внутрішньому опроміненні **мають теоретичне значення** та поповнюють базу знань щодо мішеневих цитогенетичних ефектів радіаційного впливу ^{137}Cs та їх дозової залежності, а також немішеневих ефектів, про можливість розвитку яких

свідчить підвищена індукція аберацій хроматидного типу в експерименті з гострим опроміненням ^{137}Cs крові людини, що не мала дозозалежного характеру. Моделі пролонгованого зовнішнього і/або внутрішнього опромінення крові людини ізотопом ^{137}Cs у діапазоні доз 0,09 – 0,54 Гр за умов наближених до *in vivo* можуть бути використані для теоретичної розробки, спрямованої на удосконалення методу цитогенетичної дозиметрії внутрішнього опромінення та продовження досліджень ефективності β частинок і γ -квантів ^{137}Cs в лімфоцитах людини за іншими цитогенетичними показниками.

Практичне значення отриманих результатів полягає у можливості використання розробленої калібрувальної кривої «доза-ефект» за частотою нестабільних хромосомних обмінів із супровідним парним фрагментом при гострому зовнішньому опроміненні ^{137}Cs для контролю доз і моніторингу опромінення персоналу ядерних підприємств, осіб, які тимчасово перебувають на радіаційно забруднених територіях внаслідок професійної діяльності чи мешкають у місцях з підвищеним рівнем забруднення радіоізотопами цезію.

Отримана дозова залежність виходу нестабільних хромосомних обмінів із супровідним парним фрагментом у лімфоцитах людини за пролонгованого внутрішнього опромінення зразків крові ^{137}Cs за умов наближених до *in vivo* може бути використана для оцінки поглинених доз потерпілих під час аварійних ситуацій, пов'язаних із надходженням радіоізотопу цезію до організму, як доповнення до результатів фізичної дозиметрії, або у разі відсутності останніх. Результати дисертаційних досліджень варто використовувати з навчальною метою при підготовці спеціалістів в галузях радіобіології та радіаційної медицини.

Повнота викладення наукових положень, висновків і результатів в опублікованих працях.

Результати дисертації повністю опубліковані у п'яти наукових статтях у фахових виданнях України, що входять до наукометричної бази SCOPUS та 9

тезах доповідей. Публікації прямо пов'язані з темою дисертації і розкривають її зміст. Положення і висновки, сформульовані в дисертації, ґрунтуються на результатах особистих досліджень автора і відображені в основних публікаціях. Перелік опублікованих наукових праць, наведений у Вступі дисертації, містить інформацію щодо особистого внеску здобувача у публікації, виконані разом із співавторами. Здобувач аналізувала наукові джерела за проблемою, брала участь у розробці і створенні експериментальних моделей, самостійно проводила цитогенетичні дослідження (постановку культур крові; приготування цитогенетичних препаратів та їх аналіз), статистичну обробку результатів; брала участь чи сама писала текст статей). Наукові публікації відповідають вимогам п. 8 “Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії”, затвердженого Постановою № 44 Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р.

Дискусійні положення та зауваження до дисертаційної роботи.

Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає, хоча при її рецензуванні виникли деякі зауваження та побажання.

1. У розділі 1 «Огляд літератури» підписи назв рисунків 1.1 (ст. 29), 1.2 (ст.30) не містять посилання на літературне джерело їх походження.
2. Інформацію щодо кількості проаналізованих у кожному досліді/точці дослідження клітин варто було б представити у розділі «Матеріали і методи досліджень», а не лише в таблицях результатів досліджень розділу 3, що сприяло б формуванню кращого уявлення про дизайн дослідження та об'єм роботи, виконаної на всіх його етапах.
3. У таблицях 3.1 (ст. 58), 3.2 (ст. 59) зазначено, що найвища доза гамма-опромінення зразків крові ^{137}Cs дорівнює 1,02 Гр, тоді як у тексті дисертації вона складає 1,00 Гр.
4. Інформацію щодо розрахованої “біологічної” дози наднормованого опромінення осіб із підрядного персоналу ДСП ЧАЕС з використанням

калібрувальної кривої для джерела ^{60}Co , що використовується для обговорення результатів дисертаційної роботи (таблиця 3.4, ст. 66), доцільніше було б навести в окремій порівняльній таблиці з посиланням на літературне джерело, що полегшило б сприйняття власних результатів.

5. Додаток дисертації пронумерований арабською цифрою 1 (ст. 128), тоді як для переліку додатків використовують великі літери абетки.

Також виникло **запитання** щодо практичного застосування розроблених при виконанні дисертаційної роботи калібрувальних кривих:

1. На Вашу думку, при цитогенетичному обстеженні і проведенні біологічної дозиметрії у осіб, які протягом кількох місяців перебували на території з підвищеними рівнями забруднення ^{137}Cs , варто застосовувати криву дозової залежності виходу нестабільних хромосомних обмінів для гострого, пролонгованого, чи внутрішнього опромінення?

Зауваження та побажання, які виникли в процесі рецензування, не впливають на позитивне враження від роботи та не зменшують її теоретичного та практичного значення.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Оформлення дисертації за структурою, стилем представлення матеріалу та мовою відповідає вимогам оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40.

Дисертаційна робота є самостійним дослідженням здобувача.

Порушень академічної доброчесності в дисертації та наукових працях, в яких подано результати дисертації, не виявлено.

Загальний висновок.

Таким чином, дисертаційна робота Курочкиної Віти Анатоліївни на тему «Цитогенетична ефективність радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах периферичної крові людини в модельних експериментах *in vitro*» є завершеною науковою працею, що за актуальністю проблеми, методичними підходами,

обсягом, ґрунтовністю аналізу та інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу наукових положень, науково-теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор Курочкіна Віта Анатоліївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань “09 – Біологія”, за спеціальністю “091 – Біологія та біохімія”.

Офіційний опонент:

Доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Завідувачка лабораторії цитогенетики
Інституту експериментальної радіології
Державної установи «Національний
Науковий центр радіаційної медицини,
гематології та онкології Національної
академії медичних наук України»

 Олена ШЕМЕТУН

