

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

РЕЦЕНЗІЯ

*К.м.н., с.н.с., старшого наукового співробітника відділу
Радіобіології та радіоекології
Інституту ядерних досліджень НАН України
Родіонової Наталії Костянтинівни*

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 (PhD), у галузі знань «09 – Біологія», за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія

Актуальність обраної теми дисертаційної роботи

Одним з актуальних питань сучасної радіобіології є дослідження біологічної ефективності іонізуючої радіації в діапазоні малих та помірних доз. Це обумовлено тим, що завдяки антропогенному забрудненню багатьох територій країн світу продуктами ядерного виробництва (катастрофи, аварії, випробування ядерної зброї, робота об'єктів атомної промисловості) виникли ризики розвитку негативних наслідків радіації на біоту в цілому, в тому числі і на людину. Основою для проведення будь яких робіт в даній галузі (експериментальних, натурних, або клінічних) є дозиметричний супровід. Це наріжний камінь, без якого не можна об'єктивувати отримані результати. Маючи досить велику кількість сучасного високоточного обладнання для фізичної дозиметрії, все ж таки не завжди вдається в повній мірі її використати. Найближчим прикладом для цього є аварія на ЧАЕС, коли і досі коригуються дози опромінення для

встановлення зв'язку виявлених ефектів з дозою і коректних розрахунків віддалених наслідків. Особливу важливість у даному випадку набуває розробка методів біологічної дозиметрії, чому і присвячена дана робота. Слід погодитися з авторкою, що основним для біодозиметрії на даний час є метод цитогенетичного аналізу лімфоцитів периферичній крові. Враховуючи те, що одним з основних дозоутворюючих компонентів ядерних інцидентів є ^{137}Cs , стає зрозумілим вибір автором даної дисертації саме цього радіоізоотопу для дослідження. Для визначення дози опромінення за кількістю виявлених цитогенетичних пошкоджень необхідні знання чіткої залежності ефектів від відомої заданої дози. Для цього існують калібрувальні криві, що отримуються у дослідженнях *in vitro*. Тому, обрана авторкою тема дисертації є без сумніву важливою для вирішення даного питання, в цьому полягає її основна новизна і практична значущість. Не можливо не відмітити і те, що в роботі також встановлені важливі для фундаментальної науки радіобіології ефекти дії внутрішнього опромінення радіоізоотопу цезію. Показана більш висока біологічна ефективність внутрішнього опромінення порівняно із зовнішнім в однаковому діапазоні доз.

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

Дана робота відрізняється чіткістю постановки мети, завдань, глибоким аналізом даних літератури, високопрофесійним підбором методів дослідження, скрупульозним відношенням до власних даних та методів статистичної обробки. Дисертація написана на 130 с., оформлена за сучасними стандартами, має перелік умовних позначень, вступ, 4 основних розділи, що поділені на підрозділи двох-трьох порядків, дані представлені в 19 таблицях та 14 рисунках, серед яких є мікрофотографії каріотипів лімфоцитів з хромосомними абераціями, схеми,

моделі і фотографії пристроїв для опромінення зразків крові ізотопом ^{137}Cs , що є авторськими розробками, графіки дозових залежностей виходу хромосомних аберацій. Список використаної літератури має 177 посилань на вітчизняні та закордонні наукові роботи, включає сучасні та основні фундаментальні публікації по проблемі.

В огляді літератури авторка надає фізичну та біологічну характеристику ізотопів цезію, характеристику аварійних ситуацій в різних країнах, та приводить дані про те якими методами здійснювалася дозиметрія в гому числі і на основі цитогенетичних досліджень. У заключенні до розділу авторка переконливо доказує необхідність проведення дослідів у вибраному нею напрямку. Позитивним моментом є і те, що автором опублікована оглядова стаття за тематикою.

В матеріалах і методах наведені умови опромінення зразків крові ^{137}Cs : гостре опромінення, пролонговане опромінення зразків крові зовнішнім джерелом, та внутрішнє при введенні розчину радіонукліду безпосередньо в зразки. Описано дозиметричний супровід опромінення зразків крові, а також спосіб культивування і приготування цитогенетичних препаратів лімфоцитів. Аналіз метафазних пластинок проведено із візуальним груповим каріотипуванням. Представлено якісні мікрофотографії. В препаратах аналізували нестабільні аберації хромосомного типу: дицентричні та кільцеві хромосоми із супровідним ацентричним фрагментом та вільні ацентричні фрагменти, а також, аберації хроматидного типу – поодинокі фрагменти та обміни.

При статистичній обробці даних визначали середні рівні кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на одну метафазу, розраховували стандартні похибки, перевіряли відповідність розподілу аберацій по клітинах статистиці Пуассона. Для побудови залежностей «доза-ефект»

застосовували програмне забезпечення Dose Estimate, використовували лінійну та лінійно-квадратичну моделі. Оцінювали відповідність підбраної залежності експериментальним результатам на основі розрахунків коефіцієнтів кореляції.

Результати власних досліджень представлені у 4-х підрозділах, у яких наведені дані щодо вирішення запланованих завдань, проілюстровані чіткими таблицями та графіками. Експерименти сплановані і виконані на високому професіональному рівні. Проаналізовано десятки тисяч каріотипів лімфоцитів. Опромінення проведено таким чином, що за будь яких умов (гостре або тривале, зовнішнє або внутрішнє) діапазон доз і інтервали між дозами практично однакові. Такий підхід дозволив авторці отримати об'єктивні дані про особливості впливу на хромосоми людини кожного з досліджуваних способів опромінення.

У першому підрозділі на основі результатів власних досліджень побудована калібрувальна залежність «доза-ефект» за частотою нестабільних хромосомних обмінів при гострому зовнішньому опроміненні ^{137}Cs . Дана залежність випробувана при розрахунках доз опромінення у працівників підрядного персоналу, які були задіяні у роботах з будівництва в зоні ЧАЕС. Проведене авторкою порівняння оціночних «біологічних» доз для кожній особи, розрахованих як за власною калібрувальною залежністю, так і кривою для ^{60}Co (що була взята з даних літератури), показало, що вони майже співпадають. Це вказує на достовірність отриманих в даному фрагменті дисертації результатів і підкреслює чітку залежність цитогенетичних пошкоджень від дози за умов гострого опромінення.

У підрозділах 3.2-3.5 наведені і співставленні ефекти тривалого зовнішнього і внутрішнього опромінення за рахунок дії ізотопу ^{137}Cs . Для виконання такого завдання авторкою розроблена унікальна методика опромінення зразків крові, що забезпечена високою точністю фізичного вимірювання доз опромінення та максимально наближена до опромінення *in vivo*

(температурний режим, вибір матеріалу для пробірок, обертання зразків крові під час опромінення, що забезпечує рівномірність опромінення лімфоцитів).

Проведений авторкою порівняльний аналіз цитогенетичної ефективності пролонгованого внутрішнього і зовнішнього опромінення ^{137}Cs лімфоцитів крові людини *in vitro* показав більш високу ефективність саме внутрішнього опромінення. За умов його дії спостерігається лінійна залежність від дози виходу аберацій як хромосомного, так і хроматидного типу, в той час як при дії зовнішнього лінійне збільшення встановлено лише для хромосомних мутацій. При аналізі аберацій хроматидного типу за умов тривалого зовнішнього опромінення їхня кількість в досліджуваному діапазоні доз залишалася практично на одному рівні. В той час як при внутрішньому опроміненні кількість хроматидних аберацій прогресивно підвищувалася з дозою. Даний ефект авторка пов'язує з можливістю додаткового опромінення лімфоцитів внутріклітинним радіоцезієм у процесі культивування. Для встановлення ефекту потрапляння ізоотопу ^{137}Cs в клітини, авторка провела експерименти з відмиванням клітин після інкубації і вимірюванням залишкової активності опромінення. Вдалося показати, що внаслідок потрапляння цезію в клітини сумарна доза опромінення при культивуванні крові для отримання метафазних пластинок збільшується на 20-25%.

Дисертаційну роботу виконано в межах двох планових науково-дослідних робіт відділу радіобіології і радіоекології Інституту ядерних досліджень Національної академії наук України

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна даної дисертації полягає у тому, що на основі власних розроблених моделей опромінення зразків крові *in vitro* авторкою отримані нові дані стосовно дозової залежності цитогенетичних ефектів тривалої дії радіоізоотопу ^{137}Cs за умов зовнішнього та внутрішнього опромінення в діапазоні

помірних доз. Вперше отримано залежності виходу аберацій хромосом (нестабільних хромосомних обмінів із супровідним парним фрагментом, вільних ацентриків, хроматидного типу) у лімфоцитах людини від дози (0,09 – 0,54 Гр) внутрішнього опромінення радіоізотопом ^{137}Cs зразків крові *in vitro* за умов наближених до *in vivo*. Вперше доведено більшу цитогенетичну ефективність ^{137}Cs у разі пролонгованого внутрішнього опромінення порівняно із зовнішнім за однакового діапазону доз з еквівалентною потужністю дози. Вперше розроблено (за методом Монте-Карло на базі бібліотеки GEANT-4) і валідовано моделі розрахунків для отримання запланованих та оцінки фактично отриманих доз зовнішнього і внутрішнього пролонгованого опромінення зразків крові людини в експериментах *in vitro*. Висновки обґрунтовані, повністю відображають основні положення, що розглядаються у дисертаційній роботі.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.

Теоретичне значення результатів даної дисертаційної роботи для фундаментальної радіобіології, полягає у вдосконаленні методів проведення цитогенетичної дозиметрії та поглибленні знань у визначенні особливостей біологічної ефективності дії ізотопу ^{137}Cs за різних способів опромінення (гостре, тривале зовнішнє та внутрішнє). Отримані в даній дисертації результати можуть бути використані в якості навчального матеріалу в учбових закладах при підготовці спеціалістів в галузях радіобіології та радіаційної медицини.

Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості застосування створеної за частотою нестабільних хромосомних обмінів у лімфоцитах людини кривій залежності «доза-ефект» для контролю доз професійного γ -опромінення персоналу ядерних підприємств, а також для проведення біодозиметрії у жителів радіаційно забруднених територій.

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

За результатами досліджень опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 5 статей у фахових журналах (згідно зі списком МОН України, що включені у міжнародні наукометричні бази даних); 9 тез доповідей у матеріалах конференцій та з'їздів. Публікації прямо пов'язані з темою дисертації і розкривають її зміст, відображають положення і висновки, що сформульовані в дисертації. Особистий внесок здобувача у наукові публікації є значним, вона приймала безпосередню участь як у проведенні лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, так і написанні робіт. 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.

Основні зауваження, що виникли на час апробації дисертаційної роботи, авторкою виправлені.

Дискусійним залишається використання в роботі терміну – «радіонуклідне забруднення» зразків крові, що, на мій погляд, не відповідає дійсності, так як в зразки крові вводилася задана активність радіонукліду, а не здійснювалося стихійне забруднення. Особливо не вірно звучить фраза «після припинення забруднення», коли, як доведено в роботі, в пробах присутня залишкова активність ^{137}Cs .

Питання до розділу 3.1.1.

Звертає на себе увагу значна різниця у величині розрахованих авторкою оціночних доз опромінення працівників підрядного персоналу, задіяних у роботах з будівництва в зоні ЧАЕС, та наданих фізичної дозиметрії. З чим це пов'язано? І чи вважає авторка об'єктивним застосування у даному випадку (коли

люди піддавалися фракціонованому опроміненню) калібрувальної залежності для гострого опромінення?

Питання до розділу 3.2.

Дуже важливим внеском в фундаментальну радіобіологію результатів даної роботи є показана авторкою висока біологічна ефективність внутрішнього опромінення порівняно з тривалим зовнішнім опроміненням, обумовленим розпадом того ж самого радіонукліда ^{137}Cs . До даного висновку вона підійшла завдяки коректній постановці дослідження: опромінення лімфоцитів від одного донора (що виключає різницю в радіочутливості клітин у різних людей), чіткий рівнозначний підбір потужності та часу опромінення. За таких, майже однакових дозових навантажень, кількість хромосомних аберацій за умов внутрішнього опромінення вдвічі більша ніж за умов тривалого зовнішнього. Чим авторка пояснює даний ефект?

Дані зауваження і питання не впливають на загальну позитивну оцінку даної дисертаційної роботи.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Курочкіної В. А. «Цитогенетична ефективність радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах периферичної крові людини в модельних експериментах *in vitro*» за структурою, стилем представлення матеріалу та мовою відповідає вимогам оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, вона є самостійним дослідженням здобувача, порушень академічної доброчесності в наведених в роботі матеріалах та власних публікаціях не виявлено.

Загальний висновок.

Дисертаційна робота Курочкіної В. А. «Цитогенетична ефективність радіоізопа цезію-137 у лімфоцитах периферичної крові людини в модельних експериментах

in vitro» відповідає спеціальності 091 – Біологія та біохімія у галузі знань «09 – Біологія» та вимогам “Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 та заслуговує на позитивну оцінку. Автор дисертації- Курочкіна В.А. повністю заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія у галузі знань «09 – Біологія»

Рецензент:

К.м.н., с.н.с., старший науковий співробітник
Інститут ядерних досліджень
НАН України



Н.К. Родіонова

Підпис Родіонової Н.К засвідчую:
Вчений секретар ІЯД НАН України

16.04.2022р



Дорошко Н.Л.