

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета о диссертации Котб Омара Махмуд Эльсайед на тему:
«Воздействие высокоэнергетичной протонной компоненты космических лучей на структуру ДНК», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.16 — Физика атомного ядра и элементарных частиц.

Диссертация Котба Омара Махмуда Эльсайеда связана с решением одного из важнейших вопросов – изучением влияния на организм человека ионизирующих излучений. Такие исследования необходимы для изучения последствий влияния протонов высоких энергий на организм человека и для разработки эффективных средств защиты человека от такого воздействия. В работе проводится сравнение повреждений ДНК, ответственных за гибель клеток в результате воздействия протонов высоких энергий и гамма облучения. В литературе сведений о влиянии гамма и рентгеновского облучения на организм человека в целом и на молекулу ДНК содержится достаточно много, однако биологические последствия воздействия протонов высоких энергий на генетический материал клеток рассмотрены недостаточно глубоко. Это определяет **актуальность** выполненного исследования. Заметим, что актуальность диссертационной работы не ограничивается изучением радиобиологического воздействия этого излучения на состояние ДНК в растворах, а определяется также исследованиями, позволившими получить ценные данные, которые могут быть полезны для усовершенствования так называемого “Гатчинского метода”, применяемого для лечения онкологических заболеваний. Это свидетельствует и о **практической значимости** работы. Полученные данные могут быть использованы для оценки эффективности протонной терапии и для расчета радиационной нагрузки на космонавтов при их нахождении в космосе.

Диссертация написана на 275 страницах на английском языке. Она содержит Введение, 5 разделов, Заключение, список сокращений и символов, список цитируемой литературы.

Во Введении рассматривается актуальность темы исследования, сформулирована цель исследования, перечислены задачи работы и положения, выносимые на защиту. Здесь же отмечена научная новизна полученных результатов и их практическая значимость. Результаты работы были обсуждены на отечественных и международных конференциях и симпозиумах.

09/2-02-335 от 08.06.2020

Раздел первый (Literature review) имеет два подраздела. В первом (Space research) дается характеристика космического излучения, рассмотрена возможность изучения влияния первичного космического излучения на биологические объекты в земных условиях. Второй подраздел (Proton therapy) посвящен рассмотрению протонной терапии, которая является передовым современным и перспективным методом лучевой терапии. Проводится сравнение протонной терапии и традиционной фотонной лучевой терапии и анализируются преимущества и недостатки протонной терапии при лечении онкологических заболеваний, а также приведены сведения о протонной терапии на пучке протонов 1 ГэВ (ПИЯФ ЦС-1000 МэВ).

Второй раздел содержит сведения об облучении и дозиметрии биологических образцов протонным пучком. Рассматривается облучение ДНК на медицинском пучке синхроциклотрона ПИЯФ и облучение ДНК гамма-лучами в ядерно-физическом центре Курчатовского института. Возможно, эти сведения следовало бы поместить в четвертый раздел – «Материалы и методы», так как, по сути, они относятся к условиям эксперимента.

Третий раздел снова возвращает нас к обзору литературы по теме исследования и содержит рассмотрение существующих в настоящий момент представлений о влиянии ионизирующего излучения на ДНК. Раздел написан кратко, но информативно. Приведены все необходимые сведения о структуре ДНК, о клеточном цикле и радиационной гибели клеток, о прямом и непрямом действии излучения, о характере радиационных повреждений ДНК и о влиянии космического излучения на биологические системы.

В четвертом разделе приведена характеристика используемых материалов и кратко описаны методы исследования. В диссертационной работе экспериментальные исследования повреждений структуры ДНК под действием протонов высоких энергий и гамма радиации были выполнены с помощью спектральных методов. Подбор методов (спектроскопия поглощения, круговой дихроизм, изучение плавления ДНК) обеспечивает получение необходимой информации о состоянии вторичной структуры ДНК. Следует отметить, что применение метода Спирина, который был разработан для определения концентрации ДНК по поглощению предварительно денатурированного образца, позволяет оценить также гиперхромный эффект, то есть получить информацию о степени спиральности (нативности) ДНК. Хромофорами нуклеиновых кислот являются азотистые основания, повреждения которых отражаются на спектральных свойствах ДНК. Это дает возможность диссертанту судить как о состоянии вторичной структуры, так и о повреждении азотистых оснований при проведении исследований.

Пятый раздел (Results and discussion) является центральным. Он занимает 46 страниц и содержит результаты исследований, представленные в виде рисунков, графиков, таблиц. Раздел поделен на три части, в первой из которых обосновывается применение спектральных методов для определения радиационных повреждений ДНК. Анализируется УФ поглощение, круговой дихроизм и температура плавления γ -облученной ДНК при вариации ионных условий в растворе (при использовании одно- и двухвалентных противоионов) и при разных дозах. Важным наблюдением, отмеченным в работе, является то, что объем мишени в растворе является не единственным фактором, определяющим радиационное повреждение оснований ДНК в зависимости от дозы. Сделано предположение, что большие дозы оказываются менее эффективными, так как поглощенная доза пропорциональна времени облучения, а со временем повышается вероятность рекомбинации ионов и радикалов.

Во второй части пятого раздела проводится сравнение влияния высокоэнергетических протонов и гамма-лучей на структуру ДНК. На основе анализа данных разных методов сделано заключение, что при условиях, соответствующих воздействию на ДНК протонами мощность дозы 4 Гр/мин и γ -квантами с мощностью дозы 100 Гр/мин протоны вызывают большее разрушение азотистых оснований ДНК, чем γ -излучение, тогда как денатурация макромолекулы, обусловленная воздействием радиации, примерно одинакова. Предпринята попытка исследовать вклад прямого и косвенного действия радиации в структурные повреждения ДНК протонами и γ -квантами в дозе 50Гр. Сделано заключение, о преимущественном вкладе прямого действия радиации в повреждение ДНК протонами. Этот вывод был подкреплён исследованием радиационных повреждений тимидина в воде под действием протонного и γ -излучения, а также рассмотрением влияния этанола (известного перехватчика свободных радикалов) на этот процесс. Полученные в этом разделе сведения представляют несомненный интерес. Это новые данные, которые проливают свет на биологический эффект высокоэнергетических протонов, на структурные повреждения ДНК в процессе такого воздействия.

Третья часть пятого раздела посвящена изучению защитной функции известного флавоноида – катехина при радиационном повреждении ДНК. Показано экспериментально, что с ростом концентрации катехина в облучаемом растворе наблюдается увеличение температуры плавления ДНК и сужение интервала плавления как при облучении протонами, так и для γ -облученных систем, причем радиопротекторные свойства катехина проявляются при γ -облучении растворов ДНК больше, чем при облучении протонами. Высказано предположение, что многие традиционные протекторы-

перехватчики свободных радикалов окажутся менее эффективными для защиты организма от поражения протонами высоких энергий.

Диссертация заканчивается заключением (Conclusion), в котором подводятся итог выполненных исследований и приводится список основных результатов и выводов.

Таким образом, в работе получены новые ценные данные, которые позволили автору сформулировать обоснованные выводы. Внесите с тем, при знакомстве с диссертацией возникает ряд вопросов и замечаний:

- При анализе гамма-облученной ДНК приводится зависимость относительного изменения поглощения ДНК в максимуме полосы (при 260 нм). Из спектров, приведенных на рисунке 3.1, следует, что наряду с гипохромизмом, фиксируемом на полосе поглощения с максимумом 260 нм, облучение двуспиральной ДНК приводит к возрастанию поглощения в области длин волн менее 238 нм, тогда как при изучении тех же гидролизованных растворов видно только уменьшение поглощения во всем диапазоне используемых длин волн, но сохраняется небольшое увеличение оптической плотности растворов вне полос поглощения хромофоров, по-видимому, за счет рассеяния. Как можно объяснить этот результат? Рассматривали ли спектры облучения предварительно гидролизованных растворов?
- Как можно объяснить отличную от других систем зависимость радиационно-химического выхода поврежденных азотистых оснований от дозы облучения в 0,15 М NaCl (рис. 5.4 b)?
- Какие именно изменения в гидратной оболочке ДНК определяют уменьшение поражающего действия радиации с увеличением концентрации соли в растворе
- Так как ионная сила раствора играет важную роль в процессе поражения ДНК, возможно, следовало рассмотреть роль атомов кислорода фосфатных групп в появлении одиночных разрывов при поражении ДНК.
- В работе встречаются не вполне удачные словосочетания, которые искажают смысл. Примеры: «genetic cells apparatus» (стр. 4) вместо «cell genetic apparatus» или «genetic apparatus of cell», причем правильный вариант также присутствует в работе.
Выражение: «To determine the radiation-chemical yield (G) of the destroyed nitrogenous DNA bases, the Spirin method was firstly used for spectrophotometric determination of the concentration of nucleic acids» можно неверно истолковать. Метод Спирина как раз был разработан для определения концентрации ДНК. Вернее было бы написать: «The Spirin method was firstly used to determine the radiation-chemical yield (G) of the

destroyed nitrogenous DNA bases by the spectrophotometric determination of their concentration before and after the irradiation». Из предложения « It was found that at a catechin concentration above 2.2×10^{-4} M, the T_m of γ -irradiated DNA completely restores the value obtained for native DNA (T_{m0}), while T_m of DNA irradiated with protons with an energy of 1 GeV is $0.85 T_{m0}$ » следует, что температура плавления облученной ДНК полностью восстанавливает свое значение в присутствии катехина, тогда как присутствие катехина просто препятствует ее изменению: «...catechin in concentration above 2.2×10^{-4} M prevents the decrease of T_m value... » .

Несмотря на высказанные замечания, в целом работа производит положительное впечатление. Она является законченным исследованием, содержит новые ценные результаты и выводы. Достоверность полученных результатов следует из согласованности данных, полученных разными методами.

Диссертация Котб Омара Махмуд Эльсайед на тему: «Воздействие высокоэнергетичной протонной компоненты космических лучей на структуру ДНК» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», а соискатель Котб Омар Махмуд Эльсайед заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.16 — Физика атомного ядра и элементарных частиц. Пункт 11 указанного Порядка диссертантом не нарушен.

Член диссертационного совета

Д.ф.-м.н., профессор, профессор



Касьяненко Нина Анатольевна