

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполняющий обязанности
генерального директора ФГБУ ГНЦ
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
д.м.н., проф. А.Ю. Бушманов

«21» августа 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» на диссертационную работу Арутюняна Тиграна Ашотовича «Разработка биомаркеров геномной нестабильности в клетках человека», представленную к защите в специализированном совете 051 при Ереванском государственном университете на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.15-«Генетика»

Актуальность работы.

Диссертационная работа Арутюняна Т.А. посвящена разработке биомаркеров геномной нестабильности в клетках человека для объективной оценки генотоксического действия физических и химических факторов *in vitro*, и их последующей валидации в условиях *in vivo* для понимания их вклада в развитие патологических состояний.

Ввиду клеточной гетерогенности действия генотоксических факторов применение молекулярно-цитогенетических и генотоксикологических подходов для анализа биомаркеров геномной нестабильности на уровне отдельных клеток является одним из наиболее эффективных способов оценки масштаба генотоксического действия в клеточных популяциях. В связи с этим, особую значимость имеет комплексный подход, поскольку отдельные биомаркеры отражают лишь определённый уровень или механизмы повреждения генетического материала.

Актуальность работы определяется также исследованием недостаточно изученных генотоксических эффектов ультракоротких импульсов ускоренных электронов, роли

митохондриальной ДНК (мтДНК) как мишени генотоксического влияния, значения линкерного гистона *H1-5* в поддержании стабильности генома, а также клинической верификацией биомаркеров при COVID-19 как модели системного воспалительного и оксидативного воздействия.

В связи с тем, что геномная нестабильность лежит в основе широкого спектра патологических процессов, включая канцерогенез, установление пороговых значений биомаркеров геномной нестабильности способных дискриминировать здоровых и больных людей, а также пациентов по тяжести заболевания определяет практическую значимость полученных результатов.

Структура и содержание работы.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Во введении обоснована актуальность, научная новизна и практическая значимость исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы. Обзор литературы содержит подробный анализ принципов классификации биомаркеров геномной нестабильности и методов их оценки в моделях *in vitro* и *in vivo*. Рассмотрены преимущества и ограничения стандартных биомаркеров, а также возможные подходы к применению потенциальных и суррогатных биомаркеров геномной нестабильности при действии физических и химических мутагенов и вирусных инфекциях. Особенно интересны данные о значимости сравнительно недавно выявленных инсерций мтДНК при канцерогенезе и геномной нестабильности. На основе обзора литературы диссертант логично обосновывает выбор моделей и методов исследования.

Методическая часть характеризуется применением широкого комплекса взаимодополняющих подходов: стандартного FISH, POD-FISH и Q-FISH, метода ДНК-комет, микроядерного теста, ПЦР и ОТ-ПЦР, методов оценки жизнеспособности клеток и технологии CRISPR-Cas9. Заслуживает внимания то, что диссертант разработал методику синтеза зондов для FISH анализа инсерций мтДНК в хромосомах. Статистическая обработка включала параметрические и непараметрические критерии, корреляционный и регрессионный анализ, ROC-анализ и оценку распределений индивидуальных клеточных показателей.

Были проанализированы молекулярно-цитогенетические эффекты облучения ускоренными электронами на линейном ускорителе AREAL в лимфоцитах периферической крови. Установлено увеличение интенсивности ВАС-сигналов после облучения, выявлены различия чувствительности CNV-локусов и определён пороговый уровень для идентификации клеток с амплифицированными CNV. Анализ клеточных распределений показал выраженную гетерогенность радиационного ответа. Параллельно выявлено дозозависимое укорочение теломер в метафазах и интерфазах лейкоцитов, а также в клетках К-562. Показана более высокая чувствительность теломер лейкозных клеток по сравнению

с нормальными лейкоцитами и увеличение доли клеток с критически короткими теломерами.

Автором впервые выявлены индуцированные доксорубицином *de novo* инсерции мтДНК в хромосомах. Установлена связь между частотой инсерций и уровнем микроядер, что указывает на возможное участие хромосомных разрывов в интеграции фрагментов мтДНК в ядерный геном. Выявлены изменения клеточной и внеклеточной мтДНК в нормальных лейкоцитах и лейкозных клетках. Обнаруженные различия свидетельствуют о гетерогенности повреждений митогенома и подтверждают биомаркерный потенциал мтДНК при генотоксическом воздействии.

В клетках MRC-5 и HeLa проведён нокдаун гена *H1-5* с использованием CRISPR-Cas9. Снижение его экспрессии сопровождалось повышением спонтанных уровней повреждений ДНК и хромосом. После воздействия доксорубицина и митомицина С клетки с нокдауном характеризовались более высокими уровнями микроядер и повреждений ДНК по сравнению с клетками дикого типа. Сходные результаты в двух клеточных линиях и при использовании двух генотоксикантов подтверждают роль *H1-5* в поддержании стабильности генома.

У пациентов с COVID-19 анализировали повреждения ДНК, уровни 8-OHdG, длину теломер лейкоцитов и буккальных клеток. Установлено, что повышение уровней повреждений и окислительных модификаций ДНК, а также укорочение теломер более выражены при тяжёлом течении заболевания. Стратификация по полу и возрасту позволила выявить особенности ответа в отдельных группах. Существенным результатом является определение пороговых значений биомаркеров, их чувствительности и специфичности. Длина теломер лейкоцитов продемонстрировала прогностическую значимость как независимый фактор тяжёлого течения COVID-19. Анализ частоты клеток с критически короткими теломерами дополнил оценку средних значений и позволил охарактеризовать изменения клеточных распределений.

В заключительной части результаты объединены в концепцию многоуровневой оценки геномной нестабильности. Выводы соответствуют поставленным задачам и основаны на представленных данных. Работа изложена на 233 страницах машинописного текста, содержит 81 рисунок и 37 таблиц. Список цитируемых литературных источников включает 388 наименований.

Научная новизна и значимость исследования.

Автором разработана система молекулярно-цитогенетической оценки интерстициальных и терминальных повреждений хромосом, основанная на комбинированном анализе локус-специфических CNV и длины теломер. Выявлены различия чувствительности отдельных CNV локусов к ускоренным электронам и показана возможность определения клеток с уровнями повреждений, превышающими контрольные пороги.

Впервые выявлены доксорубин-индуцированные *de novo* инсерции мтДНК в хромосомах человека. Разработанный FISH-зонд позволяет регистрировать подобные события и анализировать их связь с хромосомными повреждениями. Получены новые данные о клеточной и внеклеточной мтДНК, расширяющие представления о митохондриальном геноме как мишени генотоксического воздействия.

Показано, что снижение экспрессии *H1-5* повышает спонтанную и химически индуцированную геномную нестабильность в нормальных и опухолевых клетках. Внедрение CRISPR-Cas9 позволило создать модель для исследования механизмов поддержания стабильности хроматина и тестирования генотоксических факторов.

На клиническом материале определены пороговые значения показателей геномной нестабильности, оценена их диагностическая и прогностическая способность и выявлены независимые факторы тяжести COVID-19. Стратифицированный анализ повысил интерпретационную ценность результатов.

Теоретическая значимость работы состоит в расширении представлений о многоуровневом характере геномной нестабильности, неравномерной чувствительности участков генома, роли мтДНК и хроматина в формировании повреждений. Практическая значимость определяется возможностью применения предложенных методов, зондов и клеточных моделей для оценки действия радиационных и химических генотоксикантов, а также дальнейшей клинической валидации биомаркеров.

Результаты работы отражены в 30 публикациях, в том числе в 16 статьях и 10 тезисах, опубликованных на основе докладов на международных и республиканских конференциях, а также в 3 главах в книгах и одной монографии, что свидетельствует о достаточной апробации работы.

Замечания к работе.

Высоко оценивая результаты диссертационной работы Арутюняна Т.А., необходимо отметить, что в процессе ознакомления с материалами работы возникли следующие замечания:

1. Анализ радиационно-индуцированных CNV выполнен для пяти локусов и ограниченного числа доноров. Расширение числа локусов и применение полногеномных методов позволило бы полнее оценить распределение радиационно-чувствительных участков и межиндивидуальную вариабельность.
2. Пороговые значения биомаркеров COVID-19 установлены в одной клинической выборке и требуют независимой валидации на более крупных выборках.

Указанные замечания имеют рекомендательный характер, определяют перспективы дальнейших исследований и не снижают общей высокой оценки работы.

Заключение.

На основании вышесказанного можно заключить, что диссертационная работа Арутюняна Т.А. на тему «Разработка биомаркеров геномной нестабильности в клетках человека» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу. По актуальности, методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Арутюнян Тигран Ашотович, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.15- «Генетика».

Отзыв подготовлен доктором биологических наук, заведующим лабораторией молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России Абдуллаевым Серажутдином Абдуллаевичем (123098, Москва, ул. Живописная 46. Тел.: 8 (499) 190-94-40, E-mail: sabdullaev@fmbcfmba.ru).

20 августа 2026

Отзыв ведущей организации обсужден и утвержден на заседании Секции № 1 Ученого совета ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (протокол № 7 от «20» августа 2026 г.).

Подпись Абдуллаева С.А. подтверждено
Специалист по кадрам *Д.И. Савинова* Д.И.

