



УТВЕРЖДАЮ

Ректор
исследовательского
университета «МИФИ»

«Национального
ядерного

В.И. Шевченко

« 06 » _____ 2025 год

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Диссертационная работа на соискание степени кандидата наук «Оценка влияния ионизирующих излучений и антибиотика антрациклинового ряда доксорубина в отношении клеточных линий опухолевого и нормального происхождения *in vitro*» выполнена на базе Центра Биотехнологий Обнинского института атомной энергетики – филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (ИАТЭ НИЯУ МИФИ, г. Обнинск).

Мельникова Анжелика Александровна в период подготовки диссертации с 2021 по 2025 гг. проходила обучение в очной аспирантуре ИАТЭ НИЯУ МИФИ по направлению 1.5. Биологические науки, специальность 1.5.1. Радиобиология.

Мельникова Анжелика Александровна в 2019 году окончила бакалавриат ИАТЭ НИЯУ МИФИ по направлению «Биология», в 2021 году окончила магистратуру ИАТЭ НИЯУ МИФИ по направлению «Биология».

Мельникова Анжелика Александровна работала в ИАТЭ НИЯУ МИФИ с 2019 по 2021 год в должности заведующей лабораторией офиса образовательных программ отделения биотехнологий центра биотехнологий. С 2021 по настоящее время работает в отделении клинической иммунологии

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в должности научного сотрудника (2021-2025 г), а затем биолога (с 2025 года по настоящее время).

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2024 году ИАТЭ НИЯУ МИФИ.

Научный руководитель: Комарова Людмила Николаевна – доктор биологических наук, профессор Отделения Биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность исследования

Значительный рост заболеваемости злокачественными новообразованиями в Российской Федерации и потенциал адронной терапии для значительной части пациентов создают острую необходимость в развитии высокотехнологичных производств данного метода лечения.

Это требует проведения углубленных радиобиологических исследований, нацеленных на оптимизацию параметров адронного излучения для сравнения относительной биологической эффективности (ОБЭ) тяжелых заряженных частиц с фотонным излучением, с учётом микродозиметрических параметров и распределения поглощённой дозы, идентификацию факторов, модулирующих ОБЭ, разработку и оценку эффективности новых, а также переоценку известных радиосенсибилизаторов (например, доксорубина) для повышения терапевтического индекса адронной терапии. Использование синхротронного излучения в исследованиях взаимодействия адронов с биологическими тканями на молекулярном и клеточном уровнях является необходимым условием для разработки и усовершенствования адронной терапии злокачественных новообразований.

Применение химиотерапевтических препаратов в комбинации с лучевой терапией может привести к синергическому эффекту, проявляющемуся в усилении цитотоксического действия, подавлении

процессов репарации ДНК в опухолевых клетках и, как следствие, повышении эффективности противоопухолевой терапии. Одним из широко применяемых противоопухолевых средств является представитель антрациклинового класса цитотоксических антибиотиков доксорубицин. Его применение обосновано обширной доказательной базой, полученной в результате многочисленных клинических исследований и отраженной в общепринятых клинических рекомендациях и протоколах лечения.

Показанием к применению являются различные типы солидных опухолей, включая, но не ограничиваясь, рак молочной, гепатоцеллюлярный рак, рак шейки матки, нейробластома. Первые сообщения о препарате в научной литературе относятся к 1972 году, после чего были запущены многочисленные клинические исследования для определения его эффективности и безопасности при лечении злокачественных опухолей. В числе ранних исследований была оценка эффективности доксорубицина в монотерапии метастатического рака молочной железы, результаты которой в значительной мере способствовали широкому внедрению этого препарата в клиническую практику.

Радиорезистентность опухолей существенно ограничивает эффективность лучевой терапии, являющейся ключевым методом онкологического лечения. Следовательно, изучение молекулярных механизмов, определяющих выживаемость опухолевых клеток после воздействия ионизирующего излучения, является наиболее приоритетным направлением исследований. Для разработки эффективных стратегий противораковой терапии, особенно важны исследования, направленные на понимание механизмов репарации ДНК и клеточной гибели, индуцируемых лечением.

Цитотоксическое действие ионизирующего излучения и других ДНК-повреждающих агентов обусловлено их способностью индуцировать апоптоз в опухолевых клетках. Этот процесс регулируется сложным взаимодействием белков семейства Bcl-2, включающим как про-, так и антиапоптотические

факторы. Проапоптотические белки BH3-only, среди которых *PMAIP1* (Noxa) является мощным индуктором, играют ключевую роль в запуске апоптоза. Noxa ингибирует антиапоптотические белки (например, Mcl-1), что активирует эффекторные белки Bax/Bak, пермеабелизирует митохондриальную мембрану и инициирует необратимый апоптотический каскад.

В контрасте с проапоптотическими механизмами, Survivin, член семейства ингибиторов апоптоза (IAP), представляет собой перспективную молекулярную мишень благодаря своей роли в клеточной пролиферации и подавлении апоптоза, участию в процессах онкогенеза и метастазирования, развития лекарственной резистентности, а также значительно большей экспрессии в опухолевых клетках по сравнению с нормальными тканями.

Для выяснения молекулярных механизмов, определяющих радиочувствительность опухолевых клеток, представляется необходимым изучить влияние ионизирующего излучения с различной линейной передачей энергии на экспрессию генов *PMAIP1* (Noxa) и *BIRC5* (Survivin). В частности, количественный анализ изменений уровня экспрессии этих генов, продукты которых являются ключевыми регуляторами апоптоза, позволит установить зависимость между параметрами облучения и клеточным ответом.

Таким образом, результаты радиобиологического исследования экспрессии *PMAIP1* и *BIRC5* являются значимыми для оптимизации адронной терапии, поскольку позволяют установить корреляцию между физическими параметрами излучения и биологическим эффектом на клеточном уровне, что, в конечном счете, способствует разработке более эффективных и безопасных методов лучевой онкотерапии.

Личное участие автора в получении результатов исследования.

Мельникова Анжелика Александровна принимала непосредственное участие во всех этапах исследования, начиная с рутинных процедур культивирования клеточных линий (пассирования культур), оценки их выживаемости и пролиферации, метаболической активности, заканчивая

отбором биологического материала для проведения молекулярно-генетических исследований с помощью ПЦР-РВ и анализа методом проточной цитометрии. Самостоятельно осуществляла сбор, статистическую обработку и интерпретацию полученных данных, на основе которых были сформулированы заключение и выводы исследования. Результаты работы были подготовлены автором для публикации в научных изданиях и представления на международных и всероссийских научно-практических конференциях, и симпозиумах.

Научная новизна и практическая значимость работы.

В диссертационной работе в результате комплексного анализа получены новые данные о влиянии ионизирующего излучения разного качества (γ -излучение, ионы ^{12}C , протоны) на пять различных клеточных линий (MCF-7, HeLa, hTERT, HUH-7, SK-N-BE(2)) с использованием широкого спектра методов: анализ выживаемости (колониеобразование), анализ пролиферативной активности, оценка митохондриальной активности (МТТ-тест), проточная цитометрия (7-AAD), изучение экспрессии генов, регулирующих апоптоз *PMAIP1* (Noxa) и *BIRC5* (Survivin), что обеспечивает более полную и достоверную оценку биологического ответа клеток на облучение (на химическое и физическое воздействие) по сравнению с использованием отдельных методов.

Впервые установлена корреляционная зависимость между физическими характеристиками излучения, молекулярными механизмами клеточного ответа (включая апоптоз, репарацию ДНК и регуляцию экспрессии генов, таких как *BIRC5* и *PMAIP1*), и фенотипическими проявлениями радиочувствительности/радиорезистентности, что способствует разработке более точных моделей прогнозирования ответа на лучевую терапию, обоснованию персонализированных радиотерапевтических протоколов, а также идентификации новых молекулярных мишеней для повышения эффективности лучевого лечения с помощью радиосенсибилизирующих агентов.

Данное радиобиологическое исследование вносит вклад в фундаментальное понимание клеточного ответа на ионизирующее излучение различного качества. Многопараметрический подход, включающий анализ выживаемости (колониобразующий тест), пролиферации (время удвоения), метаболической активности (МТТ-тест), апоптоза/некроза (проточная цитометрия с 7-AAD) и экспрессии ключевых генов (*BIRC5* и *PMAIP1*), обеспечивает глубокое понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе клеточного ответа на облучение. Полученные данные расширяют фундаментальное понимание механизмов взаимодействия ионизирующего излучения с биологическими системами и могут быть использованы для создания более точных моделей радиобиологического действия.

Полученные результаты имеют значительный потенциал для развития радиогеномики, позволяя интегрировать геномные данные в прогнозирование ответа на лучевую терапию и разработку более эффективных стратегий борьбы с онкологическими заболеваниями. Полученные данные могут быть использованы для изучения молекулярных механизмов, определяющих радиочувствительность клеток (например, роль апоптоза, эффективность репарации ДНК). Целенаправленное воздействие на выявленные молекулярные мишени (например, гены *BIRC5* и *PMAIP1*) может повысить чувствительность опухолевых клеток к облучению.

Практическая значимость исследования заключается в создании инновационных решений, направленных на повышение эффективности и безопасности лучевой терапии онкологических заболеваний. Это позволит существенно улучшить прогнозирование ответа опухолевых клеток на лечение и повысить его клиническую эффективность.

Кроме того, результаты исследования интегрируются в учебный процесс по направлениям подготовки 03.03.02 – Физика, 06.03.01 и 06.04.01 – Биология, 31.05.01 – Лечебное дело, способствуя повышению квалификации специалистов в области радиобиологии, радиационной безопасности и онкологии.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Достоверность результатов работы подтверждается репрезентативностью выборки (в исследовании включено 5 клеточных линий), использованием современных методов исследований, обработкой полученных данных с применением методов статистического анализа в современных программных средствах (Microsoft Excel 2019, IBM SPSS Statistics 26 и OriginPro 8).

Соответствие содержания диссертации научной специальности.

Содержание диссертационной работы полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.1. Радиобиология (биологические науки).

Полнота изложения материала по теме диссертации.

Основные положения диссертации (результаты исследования) представлены на: 9Th International Conference on radiation in various fields of research «RAD 2021 - 9th International Conference on Radiation in Various Fields of Research, Conference Proceeding» (Herceg Novi, 2021); the The 6-th International Symposium and Schools for Young Scientists on Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine «Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine» (Moscow, 2021); XXVIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2025); школе-конференции молодых учёных и специалистов «Ильинские чтения 2022» (Москва, 2022); Международной научной конференции «Инновационные технологии ядерной медицины и лучевой диагностики и терапии» (Москва, 2023); VII Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования филиала № 2 Государственного научного центра – института биофизики (Томск, 2023); IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков (Новосибирск, 2021, 2023); 52-й научно-практической

конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной 90-летию КБГУ «Актуальные вопросы медицины» (Нальчик, 2022); 64-й Всероссийской научной конференции МФТИ (Москва-Долгопрудный-Жуковский, 2021); V Международной (XVIII Региональной) научной конференции «Техногенные системы и экологический риск» (Обнинск, 2022); IV Международной научно-практической конференции «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии» (Обнинск, 2021); XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2020), II Международной молодежной конференции «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (Обнинск, 2022, 2023).

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Мельникова А.А.**, Афонин А.А., Комарова Л.Н., Сабуров В.О. Исследование комбинированного действия протонов и химиопрепарата доксорубицина на экспрессию генов BIRC5 (Survivin) и PMAIP1 (Noxa) в клетках линии MCF-7 // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 4. С. 5-9.

2. **Мельникова А.А.**, Балдов, Д.А., Соколова А.Д., Шкавров С.В., Комарова Л.Н. Оценка эффективности комбинированного действия ионизирующего излучения разного качества и доксорубицина на клетки линии HeLa / А. А. Мельникова, Д. А. Балдов, А. Д. Соколова [и др.] // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2025. – Т. 34, № 1. – С. 128-136. – DOI 10.21870/0131-3878-2025-34-1-128-136.

3. **Мельникова А.А.**, Балдов Д.А., Комарова Л.Н. Экспериментальное исследование биологического действия ионов ^{12}C и ^{60}Co на клетки гепатокарциномы / А. А. Мельникова, Д. А. Балдов, Л. Н. Комарова // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2023. – Т. 24, № 1. – С. 597-609.

4. Комарова Л.Н., **Мельникова А.А.**, Балдов Д.А. Синергические эффекты комбинированного действия ионов углерода и химиопрепарата доксорубицин на раковых клетках линии HeLa // Известия вузов. Ядерная энергетика. – 2021. – № 3. – С. 158-168. DOI: 10.26583/npe.2021.3.13

5. Komarova L.N., **Melnikova A.A.** Investigation of the combined effect of ionizing radiation of different quality and doxorubicin on breast adenocarcinoma cells, RAD Conf. Proc, vol. 5, 2021, pp. 100-103.

6. Komarova L.N., **Melnikova A.A.**, Baldov D. A. Synergetic effects of the combined action of carbon ions and the chemotherapy drug doxorubicin on HeLa cancer cells / L. N. Komarova, A. A. Melnikova, D. A. Baldov // Nuclear Energy and Technology. – 2021. – № 7(4). – P. 285-290.

Заключение.

Диссертационная работа Мельниковой Анжелики Александровны «Оценка влияния ионизирующих излучений и антибиотика антрациклинового ряда доксорубицина в отношении клеточных линий опухолевого и нормального происхождения *in vitro*» является законченной научно-квалификационной работой, вносящей существенный вклад в решение важной задачи радиобиологии – оптимизации лучевой терапии посредством разработки предиктивных моделей ответа опухоли на облучение.

По актуальности темы, научной новизне, практической значимости и объему выполненных исследований, представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям, установленным пп. 9-14 Положения «О присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции от 16.10.2024 г. № 1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Диссертация Мельниковой Анжелики Александровны «Оценка влияния ионизирующих излучений и антибиотика антрациклинового ряда доксорубицина в отношении клеточных линий опухолевого и нормального

происхождения in vitro» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология (1.5 Биологические науки).

Заключение принято на заседании отделения биотехнологии Обнинского института атомной энергетики – филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» 3 октября 2025 года, протокол № 4.

Присутствовало на заседании: 13 человек, из них докторов наук – 6 человек, кандидатов наук – 7 человек.

Результаты голосования: «за» – 13, «против» – 0, «воздержалось» – 0.

Председатель совета по
аттестации и подготовке
научно-педагогических кадров НИЯУ МИФИ,
д.физ.-мат. наук, проф.

Н.А. Кудряшов

Председатель заседания,
Начальник отделения биотехнологий,
Д.м.н., проф.

А.А. Котляров

Секретарь заседания

Э.Н. Цвык

03.10.2025