



УТВЕРЖДАЮ

Директор

НИЦ «Курчатовский институт»

ЛЪЯКОВА Ю. А.

«12» октября 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
(НИЦ «Курчатовский институт»)

Диссертационная работа Шуватовой Валентины Георгиевны «Характеристика радиоустойчивости опухолевых стволовых клеток рака молочной железы линии MCF-7 и её снижение с помощью препаратов, обладающих активностью ингибиторов сигнальных путей» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. «Радиобиология» выполнена в лаборатории клеточной биологии, молекулярной медицины и иммунологии (ЛКБММИ) Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий (КК НБИКС-пт) «Курчатовский институт».

В.Г. Шуватова в 2013 г. с отличием окончила государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (специальность «Фармация») с присвоением квалификации провизор.

С 2014 г. по 2017 г. проходила обучение в заочной аспирантуре государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова по специальности 03.00.04 «Биохимия». В 2017 г. выдана справка о сдаче кандидатских экзаменов. Все экзамены (история и философия науки, иностранный язык (английский), дисциплина по специальности 03.00.04 «Биохимия») сданы с оценкой «отлично». В 2023 г. в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им.

А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России сдала экзамен по специальности 1.5.1. «Радиобиология» с оценкой «отлично». В период подготовки диссертации Шуватова В.Г. работала в должности сначала младшего, а затем научного сотрудника ЛКБММИ КК НБИКС-пт НИЦ «Курчатовский институт».

Научный руководитель Шуватовой В.Г. – Москалева Елизавета Юрьевна, доктор биологических наук по специальности 03.00.04 «Биохимия», профессор, ведущий научный сотрудник ЛКБММИ КК НБИКС-пт НИЦ «Курчатовский институт».

Доклад Шуватовой В.Г. по диссертационной работе на тему «Характеристика радиоустойчивости опухолевых стволовых клеток рака молочной железы линии MCF-7 и её снижение с помощью препаратов, обладающих активностью ингибиторов сигнальных путей» был заслушан и обсужден на заседании Научно-технического совета КК НБИКС-пт НИЦ «Курчатовский институт» (Протокол № 109-10прНТС от «23» сентября 2025 г.).

По итогам очного рассмотрения и обсуждения диссертации на заседании Научно-технического совета КК НБИКС-пт НИЦ «Курчатовский институт» принято следующее заключение.

Актуальность темы исследования

Злокачественные новообразования молочной железы занимают ведущее место среди опухолей всех локализаций в структуре онкологических заболеваний у женщин. В схеме лечения рака молочной железы (РМЖ) в сочетании с хирургическим удалением опухоли используется гормональная и/или химиотерапия, а также послеоперационная лучевая терапия (ЛТ), которая обеспечивает значительное снижение риска локальных рецидивов и повышение 20-летней выживаемости пациентов.

Возникновение опухоли определяется появлением в результате накопления мутаций уникальной популяции клеток со свойствами стволовых клеток (СК), получивших название опухолевых СК (ОСК). ОСК способны как к репопуляции, в результате которой происходит воспроизведение ОСК, так и к асимметричному делению, при котором происходит как воспроизведение ОСК, так и образование ограниченно пролиферирующих клеток-предшественников более дифференцированных опухолевых клеток. Роль ОСК в возникновении и развитии опухолей была доказана сначала для лейкоза, а позднее – для РМЖ, и других солидных опухолей. ОСК РМЖ характеризуются фенотипом $CD44^{+}/CD24^{-low}$, высокой активностью ABC-транспортёров и высокой туморогенной активностью

при трансплантации иммунодефицитным мышам. ОСК также определяют появление отдаленных метастазов.

Для изучения СК нормальной ткани молочной железы и ОСК разработан метод выделения и культивирования клеток с использованием специальных добавок и факторов роста (EGF и FGF) в виде не прикрепляющихся сферических кластеров, которые получили название маммосфер. Это позволяет значительно увеличить содержание ОСК в культуре. Маммосферы РМЖ характеризуются более высокой радиоустойчивостью, чем клетки 2D-культуры, однако не известно, как влияют условия культивирования на радиочувствительность собственно ОСК.

ОСК обладают высокой устойчивостью к химиотерапевтическим препаратам и к действию редкоионизирующего излучения, но более чувствительны к плотноионизирующему излучению – к действию протонов и нейтронов. Сохранение ОСК после удаления опухоли и окончания ЛТ лежит в основе рецидивирования РМЖ. Эти данные свидетельствуют об актуальности изучения радиобиологии ОСК и поиска мало токсичных радиосенсибилизаторов для повышения эффективности ЛТ.

Перспективным подходом в этом направлении, наряду с синтезом новых ингибиторов специфических сигнальных путей (PI3K/AKT/mTOR, Hedgehog, Wnt/ β -катенин и Notch), которые, поддерживают жизнеспособность и пролиферацию ОСК, является исследование лекарственных препаратов, для которых помимо известной терапевтической активности, обнаружена способность ингибировать сигнальные каскады в ОСК. Такие препараты при использовании в составе комбинированной терапии будут ингибировать пролиферацию ОСК и повышать их радиочувствительность.

Цель и задачи работы

Цель работы – характеристика чувствительности клеток маммосфер и ОСК аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 к действию γ -излучения и нейтронов и поиск способов снижения радиоустойчивости ОСК при использовании лекарственных средств, обладающих активностью ингибиторов сигнальных путей ОСК.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Сравнить радиочувствительность ОСК в культуре маммосфер и в культуре прикрепляющихся клеток линии MCF-7.
2. Охарактеризовать чувствительность клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7 к действию γ - и γ, n -излучения по показателям D0 и Dq и определить ОБЭ γ, n -излучения в зависимости от дозы облучения.

3. Изучить механизмы устойчивости клеток маммосфер линии MCF-7 к действию γ - и γ ,n-излучения.
4. Исследовать возможность повышения чувствительности клеток маммосфер и ОСК к действию γ -излучения при использовании противоопухолевых лекарственных препаратов доцетаксела, обладающего активностью ингибитора сигнальных путей PI3/AKT/mTOR и EGFR, и дазатиниба, ингибирующего активность тирозинкиназы BCR-ABL, семейства киназ SRC и рецептора c-KIT.
5. Изучить возможность повышения чувствительности клеток маммосфер и ОСК к действию γ -излучения при использовании противогельминтного препарата никлозамида, обладающего активностью ингибитора сигнальных путей Wnt, Notch, Hedgehog, NF- κ B.
6. Оценить возможность повышения чувствительности клеток маммосфер и ОСК к действию γ - и γ ,n-излучения при использовании противодиабетического препарата метформина, обладающего активностью ингибитора сигнальных путей PI3K/AKT/mTOR и MEK/ERK1/2.

Научная новизна

Обнаружено, что радиочувствительность ОСК линии MCF-7 одинакова при культивировании клеток в виде маммосфер и в виде 2D-культуры, несмотря на более высокую радиоустойчивость клеток маммосфер.

Установлены значения радиобиологических параметров D0 и Dq для клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7, которые свидетельствуют о высокой устойчивости как клеток маммосфер, так и ОСК к γ -излучению и высокой чувствительности к γ ,n-излучению.

Высокая чувствительность клеток маммосфер к действию γ ,n-излучения, в отличие от γ -излучения, определяется низкой скоростью репарации ДР ДНК, глубоким ингибированием пролиферации и высоким уровнем апоптоза клеток.

Действие γ ,n-излучения на клетки маммосфер линии MCF-7 характеризуется высокой величиной ОБЭ, которая при увеличении дозы от 0,5 до 6 Гр снижалась с 31 до 5 и с 35 до 17 при анализе выживаемости по количеству клеток и по их клоногенной активности соответственно.

Противоопухолевые препараты доцетаксел и дазатиниб, противогельминтный препарат никлозамид и противодиабетический препарат метформин при добавлении в субтоксических концентрациях перед облучением клеток маммосфер линии MCF-7 повышают их чувствительность к γ -облучению и перспективны для использования в качестве радиосенсибилизаторов при ЛТ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Обнаружено, что радиоустойчивость ОСК в культуре маммосфер и 2D-культуре линии MCF-7 одинакова и, таким образом, не зависит от способа культивирования клеток.

Установленная зависимость величины ОБЭ γ, n -излучения от дозы может быть использована для уточнения взвешивающих коэффициентов для нейтронов в соответствии с актуальным диапазоном доз, и для выбора дозы облучения при планировании ЛТ.

Представленные данные о повышении радиочувствительности клеток РМЖ линии MCF-7 при совместном использовании противоопухолевых препаратов доцетаксела и дазатиниба и противодиабетического препарата метформина свидетельствуют о целесообразности проведения доклинических и клинических испытаний эффективности использования этих препаратов в комбинированной ЛТ для повышения радиочувствительности опухолей и ОСК.

Полученные результаты могут быть использованы при чтении курса лекций по программе «Радиобиология».

Исследование выполнено в соответствии с темами НИОКР тематического плана НИЦ «Курчатовский институт» «Фундаментальные междисциплинарные исследования в нано-, био-, инфо- и когнитивных технологиях» и «Фундаментальные исследования и разработки по развитию применения ядерных технологий в медицине» и при частичной финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (соглашения о предоставлении субсидии № 14.604.21.0072 и № 14.607.21.0198).

Личный вклад автора

Личный вклад диссертанта заключался в планировании и проведении научных экспериментов, обработке, анализе и интерпретации полученных данных, написании и подготовке научных статей к публикации. Все исследования проводились автором лично. Материалы диссертации доложены автором в виде устных докладов на конференциях.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ. Из них 8 статей в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных РИНЦ, Scopus и WoS, 12 публикаций в сборниках тезисов конференций.

Статьи в журналах:

- 1) Москалёва Е.Ю., Перевозчикова В.Г. (Шуватова В.Г.), Жирник А.С., Северин С.Е. Молекулярные механизмы противоопухолевой активности никлозамида // Биомедицинская химия. – 2015. Т. 61. – № 6. – С. 680–693.
- 2) Жирник А.С., Семочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю., Перевозчикова В.Г., Родина А.В., Северин С.Е. Антипролиферативная активность никлозамида в отношении клеток меланомы и колоректального рака // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. Т. 50. – № 7. – С. 40–43.
- 3) Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Семочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю. Радиосенсибилизация опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 с помощью никлозамида // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2017. – Т. 62. – №6. – С. 5–11.
- 4) Шуватова В.Г., Семочкина Ю.П., Посыпанова Г.А., Москалёва Е.Ю. Влияние доцетаксела на выживаемость и клоногенную активность клеток культуры маммосфер линии MCF-7, обогащенной опухолевыми стволовыми клетками // Молекулярная медицина. – 2019. – Т. 17. – № 5. – С. 57–63.
- 5) Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Семочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю. Механизмы радиосенсибилизирующего действия никлозамида в отношении культуры маммосфер линии MCF-7, обогащенных опухолевыми стволовыми клетками // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2019. – Т. 59. – № 3. – С. 235–242.
- 6) Poltavets Y.I., Zhirnik A.S., Zavarzina V.V., Semochkina Y.P., Shuvatova V.G., Krashenninnikova A.A., Aleshin S.V., Dronov D.O., Vorontsov E.A., Balabanyan V.Yu., Posypanova G.A. In vitro anticancer activity of folate-modified docetaxel-loaded PLGA nanoparticles against drug-sensitive and multidrug-resistant cancer cells // Cancer Nanotechnology. – 2019. – V. 10. – № 2. – P. 1–17.
- 7) Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Семочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю. Повышение радиочувствительности опухолевых стволовых клеток линии MCF-7, культивируемых в виде маммосфер, к γ - и γ -нейтронному облучению с помощью метформина // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2022. – Т. 62, № 3. С. 264–272.
- 8) Shuvatova V.G., Semochkina Yu.P., Strepetov A.N., Moskaleva E. Yu. Sensitivity of MCF-7 mammosphere CSCs to neutron radiation // Journal of Cancer Metastasis and Treatment. – 2022. – V. 8. – № 23.

Тезисы конференций:

1. Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Семочкина Ю.П. Влияние никлозамида на радиочувствительность опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 // Международный научно-практический форум «Ядерные технологии на страже здоровья» – Москва, Россия, 2016: Сборник тезисов. – С. 86–87.

2. Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П. Сравнение устойчивости клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 в виде 2D и 3D культур к действию никлозамида и облучения // XIV Курчатовская междисциплинарная молодежная научная школа – Москва, Россия, 2016: Сборник тезисов. – С. 84.
3. Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Сёмочкина Ю.П. Изучение радиосенсибилизирующего действия никлозамида в отношении опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 // IV Молодежный научный форум «Open Science» – Гатчина, Россия, 2017: Сборник тезисов. – С. 81.
4. Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П. Повышение чувствительности опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 к действию γ -излучения с помощью никлозамида // Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2017» – Москва, Россия, 2017: Сборник тезисов. – С. 1.
5. Шуватова В.Г., Кувырченкова А.П., Сёмочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю. Антигельминтный препарат никлозамид, как перспективный радиосенсибилизатор опухолевых стволовых клеток. Возможные механизмы действия // Международная конференция «Проблемы химической защиты и репарации при радиационных воздействиях» – Дубна, Россия, 2018: Сборник тезисов. – С. 173–175.
6. Шуватова В.Г., Посыпанова Г.А., Поджилкова А.Н., Сёмочкина Ю.П. Доцетаксел в низких дозах сенсибилизирует клетки маммосфер и ОСК аденокарциномы молочной железы // VIII Съезд по радиационным исследованиям – Москва, Россия, 2021: Сборник тезисов. – С. 158.
7. Шуватова В.Г., Сёмочкина Ю.П. Сравнительная характеристика радиочувствительности клеток линии MCF-7, культивируемых в виде прикрепляющейся культуры и в виде маммосфер, к действию гамма- и гамма-нейтронного излучения // IX Всероссийский молодежный научный форум с международным участием «OpenScience 2022» – Гатчина, Россия, 2022: Сборник тезисов. – С. 92.
8. Шуватова В.Г., Сёмочкина Ю.П. Оценка чувствительности опухолевых стволовых клеток линии MCF-7 к действию редко- и плотноионизирующего излучения // Сборник тезисов докладов Второй Всероссийской научно-практической конференции «Задачи и методы нейтронных исследований конденсированных сред» – Дубна, Россия, 2022: Материалы конференции. – С. 56–57.
9. Шуватова В.Г., Москалёва Е.Ю. Механизмы снижения радиоустойчивости опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 с помощью метформина // Международная научная конференция

- «Радиобиология и экологическая безопасность – 2023» – Гомель, Республика Беларусь, 2023: Сборник материалов. – С. 313–315.
- 10.Шуватова В.Г., Шапошникова Д.А. Репарация ДНК и клоногенная активность клеток маммосфер линии MCF-7 после гамма-нейтронного облучения // Международная конференция «Актуальные проблемы радиационной биологии. Молекулярно-генетические исследования в радиобиологии – к 70-летию открытия структуры ДНК» – Дубна, Россия, 2023: Сборник материалов. – С. 124–126.
- 11.Гутникова Д.О., Шуватова В.Г., Шапошникова Д.А. Опухолевые стволовые клетки рака молочной железы человека линии MCF-7 и поиск способов повышения их чувствительности к облучению // IX Молодежная школа-конференция по молекулярной и клеточной биологии Института цитологии РАН – Санкт-Петербург, Россия, 2024: Материалы. – С. 11–12.
- 12.Гутникова Д.О., Шуватова В.Г., Шапошникова Д.А. Дазатиниб как потенциальный радиосенсибилизатор опухолевых стволовых клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 // Международная конференция «Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов» – Дубна, Россия, 2024: Материалы конференции. – С. 75–77.

Заключение

Отраженные в диссертации научные положения соответствуют области исследований специальности «1.5.1 – Радиобиология» и охватывают п.4 «Механизмы формирования клеточных, молекулярных, генетических изменений в клетках млекопитающих и человека при действии различных видов излучений с разными физическими характеристиками» и п.6 «Клеточная радиобиология. Механизмы клеточной радиочувствительности и радиорезистентности; модификация радиочувствительности клеток» паспорта специальности.

Диссертационная работа Валентины Георгиевны Шуватовой «Характеристика радиоустойчивости опухолевых стволовых клеток рака молочной железы линии MCF-7 и её снижение с помощью препаратов, обладающих активностью ингибиторов сигнальных путей» по своей актуальности, научной новизне, содержанию, объему и уровню проведенных исследований, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности полученных результатов, научной и практической значимости, полностью соответствует требованиям п.п. 9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата

биологических наук, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. – Радиобиология.

Заключение принято на заседании Научно-технического совета КК НБИКС-пт НИЦ «Курчатовский институт».

На заседании присутствовало 29 человек. Результаты голосования: «за» – 29 человек, «против» – 0 человек, воздержалось – 0 человек, протокол № 109-10прНТС от «23» сентября 2025 г.

Заместитель председателя
Научно-технического совета
Курчатовского комплекса
НБИКС-природоподобных технологий
НИЦ «Курчатовский институт»,
доктор физико-математических наук, профессор

П. К. Кашкаров

Ученый секретарь
Научно-технического совета
Курчатовского комплекса
НБИКС-природоподобных технологий
НИЦ «Курчатовский институт»,
доктор физико-математических наук

В. А. Демин

Подписи П. К. Кашкарова и В. А. Демина заверяю:

Заместитель директора –
Главный учёный секретарь
НИЦ «Курчатовский институт»



О. А. Алексеева