

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук

Лобачевского Павла Николаевича

на диссертационную работу 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», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. Радиобиология

Актуальность выполненного исследования

Диссертационная работа Шуватовой В.Г. посвящена исследованию чувствительности опухолевых стволовых клеток (ОСК) рака молочной железы (РМЖ) линии MCF-7 к разным видам ионизирующего излучения и возможности повышения радиочувствительности ОСК с помощью препаратов – ингибиторов сигнальных путей. Современная концепция устойчивости опухоли к воздействию терапевтических средств, включая лучевую терапию, предполагает наличие в опухоли малочисленной субпопуляции ОСК. Эти клетки обладают высокой радиорезистентностью, позволяющей им выживать при действии ионизирующего излучения, что может снижать эффективность лучевой терапии (ЛТ) РМЖ. Сохранение ОСК в организме после удаления опухоли и окончания ЛТ может лежать в основе появления рецидивов РМЖ. Все это свидетельствует об актуальности самой концепции ОСК и изучения радиобиологических свойств этих клеток. Учитывая, что одним из направлений повышения эффективности ЛТ является применение комбинированного воздействия излучения и химических агентов, способных повышать радиочувствительность клеток (радиосенсибилизаторов), несомненный интерес представляет влияние таких агентов на радиочувствительность ОСК. В контексте вышесказанного, актуальность представленной диссертационной работы, предметом которой

с отзывом ознакомлена Шуватова В.Г. 09.10.20

ВХОД. №	5723
ДАТА	09.10.2026
КОЛ-ВО ЛИСТОВ	7 стр.
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России	

являлось исследование чувствительности клеток, и в частности ОСК, аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 к действию γ -излучения и нейтронов и влияния лекарственных средств на снижение радиоустойчивости ОСК, не вызывает сомнений.

В представленном исследовании корректно сформулированы задачи, решение которых позволяет достичь поставленных целей. Все поставленные задачи автором успешно решены.

Работа выполнена с использованием клеточных культур с применением метода культивирования клеток в виде плавающих кластеров-маммосфер. Применение данного метода позволяет значительно увеличить содержание ОСК в культуре и в известной мере приближает клеточную модель к модели опухоли. Исследование радиочувствительности клеток, и особенно ОСК, в этой модели представляет особый интерес.

Научная новизна

Научная новизна диссертационной работы В.Г. Шуватовой определяется целым рядом впервые полученных результатов. В работе продемонстрировано, что чувствительность ОСК к γ -облучению одинакова при культивировании клеток линии MCF-7 как в виде 3D-культуры маммосфер, так и в виде 2D-культуры, хотя радиочувствительность клеток прикрепляющейся 2D-культуры значительно выше, чем клеток, культивируемых в виде маммосфер. Таким образом, использованный автором подход позволил выявить, что радиочувствительность ОСК не зависит от способа культивирования клеток РМЖ линии MCF-7. Полученные в работе значения радиобиологических параметров D_0 и D_q для клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7 свидетельствуют о высокой устойчивости этих клеток к γ -излучению и высокой чувствительности к γ, n -излучению. В работе также охарактеризованы возможные механизмы радиочувствительности клеток маммосфер к действию плотноионизирующего излучения, к которым относятся низкая скорость репарации двунитевых разрывов ДНК и глубокое ингибирование пролиферации при действии излучения этого типа. Автором также установлено, что действие γ, n -излучения

на клетки маммосфер линии MCF-7 характеризуется высокой величиной ОБЭ, которая при увеличении дозы от 1 Гр до 6 Гр составляла от 31 до 5 и от 35 до 17 при анализе выживаемости по количеству клеток и по клоногенной способности соответственно. Кроме того, автор впервые показала, что 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.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая и практическая значимость рецензируемой работы основана на результатах исследований, проведенных В. Г. Шуватовой. В контексте теоретической значимости, эти результаты представляют несомненный интерес для понимания механизмов чувствительности ОСК при действии излучений с разными характеристиками, а также процессов, лежащих в основе повышения их радиочувствительности при облучении в сочетании с радиосенсибилизаторами.

Установленные в работе величины ОБЭ γ ,n-излучения для клеток маммосфер РМЖ линии MCF-7 и ОСК, а также зависимости этих величин от дозы, могут быть полезны для оптимизации дозы облучения при планировании лучевой терапии с использованием плотноионизирующих излучений.

Данные о радиосенсибилизирующих свойствах противоопухолевых препаратов доцетаксела и дазатиниба, а также противодиабетического препарата метформина и антигельминтного препарата никлозамида в отношении клеток маммосфер линии MCF-7 подтверждают важность дальнейших исследований этих препаратов для повышения чувствительности ОСК к облучению.

Оформление диссертации и оценка её содержания

Диссертационная работа объемом 140 страниц машинописного текста представляет собой комплексное логически законченное исследование, включающее анализ литературных данных и описание оригинальных экспериментальных результатов. Материал систематизирован и включает

следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы» и «Приложение». Работа содержит 54 рисунка и 17 таблиц.

В разделе «Введение» автором четко обоснованы актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту и приведена структура диссертационной работы.

Глава 1 «Обзор литературы» представлена в достаточном объеме и свидетельствует о широком кругозоре автора и всестороннем понимании предмета диссертационного исследования. Представленная в главе информация свидетельствует о том, что автор хорошо понимает современное состояние проблемы, а также задачи, которые необходимо решить в рамках исследования радиорезистентности ОСК и поиска способов её снижения.

В главе 2 «Материалы и методы» диссертации представлены хорошо известные методы, представляющие собой современные радиобиологические подходы, включающие световую, флуоресцентную и конфокальную микроскопию, а также проточную цитофлуориметрию, необходимую для идентификации ОСК. В главе также подробно описаны условия проведения экспериментов, что позволяет полностью воспроизвести ход исследований.

В главе 3 представлены полученные автором результаты, а также их обсуждение. Объем представленных результатов охватывает все поставленные в работе задачи. Корректная статистическая обработка полученных данных позволяет оценить их достоверность. Обсуждение результатов является достаточно полным, последовательным и логичным. Представленные в диссертационной работе результаты подтверждают все положения, вынесенные на защиту, а также аргументируют все обнаруженные закономерности, которые представлены в виде выводов.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и отражает основные результаты исследования. По результатам, проведенных исследований опубликованы 8 статей в рецензируемых журналах, 6 из которых

входят в Перечень ВАК РФ для защиты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, и 12 тезисов докладов, представленных на научных конференциях.

Вопросы и замечания

Как любая творческая работа, представленное исследование не лишено моментов, вызывающих вопросы или замечания. К ним можно отнести следующие:

1. На рисунках 15Б (стр. 65) и 16Б (стр. 66) представлены данные по зависимости ОБЭ γ ,n-излучения от дозы, причем данные показаны в виде точек и кривых. В подписях к рисункам, однако, нет указаний, что представляют собой точки и кривые. В работе указано, что “Дозы двух типов излучений, приводящих к одинаковому эффекту, определяли по графикам зависимости выживаемости клеток...от дозы”. Означает ли это, что применялся именно графический метод с использованием печатной версии графика, или применялись какие-то формулы? Если это первый случай, то как определяли ошибку D_0 ?

2. В работе проведено исследование сочетанного действия облучения и ряда лекарственных соединений – ингибиторов сигнальных путей (доцетаксела, дазатиниба, никлозамида) на жизнеспособность клеток с целью установить влияние этих соединений на радиочувствительность. В ряде случаев результаты экспериментов демонстрируют увеличение радиочувствительности при облучении в присутствии этих потенциальных радиомодификаторов, что свидетельствует о радиосенсибилизирующем действии этих агентов. Полученные данные позволяют, в принципе, рассчитать количественные параметры, характеризующие степень радиосенсибилизации, однако такого расчета в работе не сделано.

3. На рисунках 44 и 45 представлены результаты по влиянию никлозамида на образование и репарацию радиационно-индуцированных ДР ДНК. Для этих целей в работе изучали уровень гистона гамма-H2AX (маркера ДР ДНК) с помощью проточной цитофлуорометрии. Представленные результаты

позволяют однозначно заключить, что облучение в присутствии никлозамида приводит к увеличению выхода ДР ДНК. Однако вывод о подавлении никлозамидом репарации ДР ДНК нельзя считать столь однозначным. Такой вывод сделан на основании сравнения уровня гамма-H2AX через 24 в клетках, облученных в присутствии никлозамида и без такового, хотя необходимо сравнивать уровень этого гистона через 1 и 24 часа после облучения в присутствии никлозамида. В последнем случае наблюдается уменьшение этого уровня с 17,8 до 10,9 усл. ед., аналогично уменьшению после облучения без никлозамида с 12,6 до 9,1 усл. ед., то есть в обоих случаях можно говорить о наличии репарации ДНК. В этом контексте следует также отметить, что повышенный уровень гамма-H2AX в клетках, инкубированных с никлозамидом, обусловлен появлением субпопуляции клеток с экстремально высоким уровнем, происхождение которого и связь с ДР ДНК нельзя установить при помощи проточной цитофлуорометрии, в отличие от флуоресцентной микроскопии.

4. На рисунках 44 и 45 имеет место некоторое несоответствие между информацией в подписи и на самом рисунке: уровень сигнала в контроле 7,9 (в подписи) и 8,0 и 8,3 на самих рисунках.

Указанные недостатки не носят существенного характера и не снижают научную и практическую ценность работы. Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов не вызывает сомнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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» выполнена на высоком профессиональном уровне и представляет собой законченное исследование, направленное на решение важной научной проблемы, обусловленной поиском путей преодоления высокой природной

радиоустойчивости ОСК. Работа соответствует пункту 6 «Клеточная радиобиология. Механизмы клеточной радиочувствительности и радиорезистентности; модификация радиочувствительности клеток.» паспорта специальности 1.5.1. – Радиобиология (биологические науки).

По актуальности, объему проведенных исследований, научной новизне, а также практической и теоретической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 в редакции от 18.07.2026 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. – Радиобиология (биологические науки).

Официальный оппонент
кандидат биологических наук
(03.00.01 – Радиобиология)
« 1 » октября 2026 г.



П.Н. Лобачевский

Лобачевский Павел Николаевич

Почтовый адрес: 141980, Московская область, г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, д. 6

Международная межправительственная научно-исследовательская организация

Объединенный институт ядерных исследований

Телефон: +7(910) 476-39-01

Адрес электронной почты: lobachevsky@jinr.ru

Подпись П.Н. Лобачевского заверяю:

Ученый секретарь
Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ

И.В. Кошлань

« 1 » октября 2026 г.

