

ШУВАТОВА ВАЛЕНТИНА ГЕОРГИЕВНА

ХАРАКТЕРИСТИКА РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ MCF-7 И ЕЁ
СНИЖЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ
АКТИВНОСТЬЮ ИНГИБИТОРОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

1.5.1. Радиобиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Научный руководитель:

Москалева Елизавета Юрьевна – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, молекулярной медицины и иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Официальные оппоненты:

Пряхин Евгений Александрович – доктор биологических наук, профессор, начальник научно-исследовательского экспериментального отдела Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Южно-Уральский федеральный научно-клинический центр медицинской биофизики» ФМБА России

Лобачевский Павел Николаевич – кандидат биологических наук, начальник отдела радиационной биологии и физиологии лаборатории радиационной биологии Международной межправительственной организации «Объединенный институт ядерных исследований»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 29 » октября 2026 года в 10 часов 00 минут на заседании Диссертационного совета 68.1.003.01 по адресу: 123182, Москва, ул. Живописная, д. 46. Тел.: +7(495)190-96-98

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России, и на сайте: <https://fmbafmbc.ru/nauka/dissertatsionnyy-sovet>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Шандала Наталия Константиновна

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Научный руководитель:

Москалева Елизавета Юрьевна – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, молекулярной медицины и иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Официальные оппоненты:

Пряхин Евгений Александрович – доктор биологических наук, профессор, начальник научно-исследовательского экспериментального отдела Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Южно-Уральский федеральный научно-клинический центр медицинской биофизики» ФМБА России

Лобачевский Павел Николаевич – кандидат биологических наук, начальник отдела радиационной биологии и физиологии лаборатории радиационной биологии Международной межправительственной организации «Объединенный институт ядерных исследований»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 29 » октября 2026 года в 10 часов 00 минут на заседании Диссертационного совета 68.1.003.01 по адресу: 123182, Москва, ул. Живописная, д. 46. Тел.: +7(495)190-96-98

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России, и на сайте: <https://fmbafmbc.ru/nauka/dissertatsionnyy-sovet>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Шандала Наталия Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 [Хмелевский Е.В., Трофимова О.П., 2020; Korzets Y et al., 2022; Шахзадова А.О. и соавт., 2023].

В соответствии с современными представлениями возникновение опухоли определяется появлением в результате накопления мутаций уникальной популяции клеток со свойствами стволовых клеток (СК), получивших название опухолевых стволовых клеток (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 [Bonnet D., Dick J.E., 1997; Reya T. et al., 2001], 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 [Al-Hajj M. et al., 2003]. Перенос ОСК с кровью или лимфой из опухоли в те зоны организма, в которых имеется комфортное для этих клеток микроокружение, определяет появление отдалённых метастазов. Сохранение ОСК после удаления опухоли и окончания ЛТ лежит в основе рецидивирования РМЖ, что свидетельствует об актуальности изучения радиобиологии ОСК.

Для характеристики СК и ОСК молочной железы разработан метод выделения и культивирования клеток с использованием специальных добавок и факторов роста (EGF и FGF) в виде плавающих сферических кластеров, которые формируют 3D-культуру и получили название маммосфер [Dontu G. et al., 2003; Ponti D. et al., 2005]. Этот метод позволяет значительно увеличить содержание ОСК в культуре. Маммосферы РМЖ характеризуются более высокой радиоустойчивостью, чем клетки 2D-культуры [Phillips TM et al., 2006], однако не ясно, как влияют условия культивирования на радиочувствительность собственно ОСК.

Известно, что ОСК устойчивы как к конвенциональной химиотерапии [Chuthapisith S. et al., 2010; He L. et al., 2021], так и к радиационным воздействиям при использовании редкоионизирующего излучения [Rusaj K., Tang D.G., 2014; Olivares-Urbano MA, et al., 2020], но высоко чувствительны к действию протонов, нейтронов и других типов плотноионизирующего излучения [Матчук и др., 2012, 2022, 2023, Zhang X. et al., 2013]. Эти данные свидетельствуют об актуальности поиска мало токсичных радиосенсибилизаторов для повышения эффективности ЛТ при использовании редкоионизирующего излучения.

Перспективным подходом в этом направлении, наряду с синтезом новых ингибиторов специфических сигнальных путей, поддерживающих жизнеспособность и пролиферацию ОСК, является исследование лекарственных препаратов, для которых помимо известной терапевтической активности, обнаружена способность ингибировать сигнальные каскады в ОСК [Olivares-Urbano MA, et al., 2020; Li J. et al., 2023]. Использование таких препаратов в составе комбинированной терапии может ингибировать пролиферацию ОСК и повышать их радиочувствительность.

Степень разработанности темы исследования

Высокая эффективность ЛТ с использованием реакторных нейтронов при лечении радиорезистентных опухолей, включая РМЖ [Мусабаева Л.И. и соавт., 2013], и создание компактных терапевтических генераторов нейтронов [Лычагин А.А. и соавт., 2014] стимулировали повышение интереса к развитию ЛТ с использованием нейтронов и изучению эффектов облучения нормальных клеток и ОСК нейтронами [Juerß D., et al., 2017; Posypanova G.A. et al., 2022; Matchuk O.N. et al., 2022]. Однако радиобиологические параметры, характеризующие радиочувствительность ОСК РМЖ и их способность к репарации после облучения нейтронами, зависимость относительной биологической эффективности (ОБЭ) нейтронов от используемых доз исследованы недостаточно. Вопрос о возможности повышения радиочувствительности ОСК РМЖ с помощью известных лекарственных препаратов, способных ингибировать сигнальные пути, стимулирующие пролиферацию ОСК, остается мало изученным. Эти проблемы определили актуальность, цель и задачи диссертационного исследования.

Цель и задачи исследования

Целью исследования явилось изучение чувствительности клеток РМЖ линии MCF-7, культивируемых в виде 3D-культуры, и ОСК в этой культуре к редко- и плотноионизирующему излучению 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 2D- и 3D-культуре клеток линии MCF-7.

2. Оценить радиоустойчивость клеток 3D-культуры и ОСК в этой культуре при облучении γ -квантами и нейтронами по показателям D_0 и D_q и определить величину ОБЭ γ ,n-излучения в зависимости от дозы облучения.

3. Сравнить механизмы устойчивости клеток маммосфер линии MCF-7 к действию γ - и γ ,n-излучения.

4. Оценить 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 D_0 и D_q для клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7, которые свидетельствуют о высокой устойчивости и клеток маммосфер, 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

1 Гр до 6 Гр снижалась с 31 до 5 и с 35 до 17 при анализе выживаемости по количеству клеток и по клоногенной способности 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

На примере клеток РМЖ линии MCF-7 обнаружено, что радиоустойчивость ОСК в культуре маммосфер и 2D-культуре 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 и облучения свидетельствуют о целесообразности проведения доклинических и клинических испытаний эффективности использования этих препаратов в комбинированной ЛТ для повышения радиочувствительности опухолей и ОСК. Полученные в диссертационной работе результаты будут полезны в процессе преподавания таких дисциплин, как «Биофизика» и «Радиобиология».

Методология и методы исследования

Теоретическую основу диссертационной работы составили сведения, представленные в научных статьях, опубликованных в рецензируемых высокорейтинговых изданиях, специализирующихся в выбранной автором области исследований. Методология работы основана на современных радиобиологических подходах и концепциях, апробированных в исследованиях последних лет.

При проведении исследований в соответствии с задачами работы были использованы методы культивирования клеток, γ -облучение клеток на гамма-установке «ГУТ-200М», облучение клеток нейтронами с сопутствующим γ -излучением на реакторе «ИР-8». В работе использована современная приборная база и методы исследований: световая, флуоресцентная и

конфокальная микроскопия, проточная цитофлуориметрия и статистические методы обработки полученных данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Установленные значения радиобиологических параметров D_0 и D_q свидетельствуют о более высокой радиоустойчивости клеток маммосфер, чем клеток 2D-культуры линии MCF-7 при действии γ -излучения, которая обусловлена более медленной скоростью пролиферации, более высокой скоростью репарации ДР ДНК и устойчивостью к индукции апоптоза. При этом радиочувствительность ОСК в этих культурах одинакова.

2. Клетки маммосфер и ОСК линии MCF-7 высоко чувствительны к облучению нейтронами, что обусловлено более высоким уровнем образования ДР ДНК, низкой скоростью репарации ДР ДНК и более высоким, чем при γ -облучении, уровнем индукции апоптоза.

3. При облучении 3D-культуры клеток MCF-7 нейтронами обнаружена высокая величина ОБЭ, которая при увеличении дозы с 1 Гр до 6 Гр при анализе выживаемости по количеству клеток снижалась с 31 до 5, а при анализе клоногенной выживаемости – с 35 до 17.

4. Противоопухолевый препарат доцетаксел эффективно снижает количество ОСК линии MCF-7 и оказывает радиосенсибилизирующее действие при γ -облучении клеток маммосфер.

5. Противоопухолевый препарат дазатиниб в субтоксической концентрации повышает чувствительность клеток маммосфер линии MCF-7 к действию γ -излучения.

6. Противогельминтный препарат никлозамид повышает чувствительность ОСК и клеток маммосфер линии MCF-7 к действию γ -излучения благодаря подавлению их способности к пролиферации, уменьшению активности сигнального пути Wnt, активированного под действием γ -излучения, увеличению уровня образования пострadiационных разрывов ДНК и ингибированию репарации ДР ДНК.

7. Гипогликемический препарат метформин повышает радиочувствительность клеток 3D-культуры и ОСК линии MCF-7 как при действии γ -излучения, так и при облучении нейтронами.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность представленных в работе материалов основана на использовании тех актуальных экспериментальных методов и методов обработки и представления данных, включая статистические, которые широко апробированы в современной радиационной, клеточной и молекулярной биологии. Полученные результаты представлены в виде публикаций в

изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций (6 статей), в 2-х зарубежных изданиях и в виде 12 тезисов докладов, представленных на отечественных и международных конференциях.

Связь работы с научными программами

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).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.1 «Радиобиология» (п.4 и п.6).

Личный вклад автора

Автор лично выполнял все этапы работы от разработки дизайна исследования и проведения экспериментов согласно рабочему плану, до обработки полученных результатов и подготовки текстов статей и тезисов. Полученные результаты были представлены на профильных конференциях автором лично.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа построена по классическому образцу и включает разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы» и «Приложение». Библиографический список содержит 304 источника, 288 из которых англоязычные. В описании результатов представлено 54 рисунка и 17 таблиц. Работа изложена на 140 стр.

2. СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1. Материалы и методы

Культивирование клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 проводили в виде прикрепляющейся 2D-культуры и в виде суспензионной 3D-культуры маммосфер. Анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла проводили после окрашивания ДНК йодистым пропидием, долю пролиферирующих и покоящихся клеток в фазе G_0 – после окрашивания флуоресцентно мечеными антителами к белку Ki67.

Определение количества ОСК проводили по фенотипу CD44⁺/CD24^{-low} с использованием соответствующих антител к антигенам CD44 и CD24; по способности формировать боковую популяцию (SP) при окрашивании флуоресцентным красителем Хёхст 3342 без и в присутствии верапамила и по уровню активности альдегиддегидрогеназы (ALDH). Эти исследования, а также анализ уровня апоптоза, содержания белков сигнального пути Wnt β -катенина и Dishevelled-2 и содержания гистона γ H2AX в клетках после иммуноцитохимического окрашивания проводили с помощью проточной цитофлуориметрии. Анализ количества фокусов гистона γ H2AX в ядрах клеток проводили с помощью флуоресцентной конфокальной микроскопии после иммуноцитохимического окрашивания.

Абсолютное количество ОСК рассчитывали, используя данные об общем количестве клеток в культуре, определенном с помощью камеры Горяева, и относительном количестве ОСК (CD44⁺/CD24^{-low}) в культуре.

γ -Облучение клеток проводили на установке «ГУТ-200М» (⁶⁰Co) в дозах 1–8 Гр при мощности дозы 0,75 Гр/мин; облучение нейтронами – на горизонтальном экспериментальном канале реактора «ИР-8» в дозах 0,05–2 Гр при мощности дозы 0,07 Гр/мин в суспензии.

Для анализа клоногенной выживаемости клеток 2D-культуры линии MCF-7 подсчитывали количество колоний через 14 сут, а в случае клеток 3D-культуры – количество маммосфер через 7 сут после облучения. В обоих случаях учитывали колонии, содержащие не менее 50 клеток. Выжившую фракцию клеток (SF) рассчитывали по формуле: $SF = PE_{обл.}/PE_{контр.}$, где $PE_{обл.}$ и $PE_{контр.}$ – эффективность клонирования, рассчитываемая как отношение количества образовавшихся колоний к количеству высаженных клеток в облученных образцах и необлученном контроле соответственно. Данные аппроксимировали согласно многомишенной одноударной модели:

$SF = 1 - (1 - \exp(-D/D_0))^n$. Значение D_0 устанавливали по полученным графикам дозовой зависимости. Значение D_q рассчитывали по формуле: $D_q = D_0 \ln(n)$.

Коэффициент относительной биологической эффективности (ОБЭ) определяли как отношение равноэффективных доз стандартного γ -излучения и γ, n -излучения. Для статистического анализа полученных данных с помощью t-критерия Стьюдента использовали программное обеспечение Origin 8 и Excel. Порог статистической значимости установлен на уровне $p < 0,05$.

2.2. Результаты и обсуждение

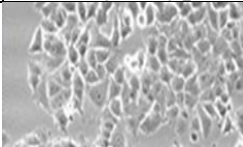
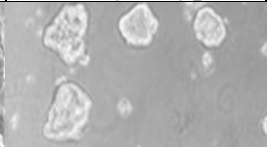
2.2.1 Характеристика пролиферативной активности и содержания ОСК в 2D-культуре и в культуре маммосфер линии MCF-7

Для увеличения размера фракции ОСК используют специальные условия культивирования, в которых более дифференцированные опухолевые

клетки погибают, а ОСК пролиферируют с образованием сферических плавающих колоний – маммосфер. Сравнение пролиферативной активности клеток 2D-культуры и культуры маммосфер линии MCF-7 и относительное содержание ОСК в этих культурах, определенное разными способами, представлено в табл. 1.

Более длительное время удвоения клеток, более высокая доля клеток в фазе G_0/G_1 и более низкая в фазе S, свидетельствуют о более медленной пролиферации клеток культуры маммосфер. Содержание ОСК в культуре маммосфер в 10 раз выше, чем в 2D-культуре при анализе по фенотипу $CD44^+/CD24^{-/low}$, по размеру популяции SP и по размеру фракции $ALDH^+$ -клеток, а по эффективности клонирования – в 4 раза.

Таблица 1 – Характеристика пролиферативной активности 2D- и 3D-культур линии MCF-7 и относительное содержание ОСК в них

Исследуемые показатели	2D-культура	3D-культура
Микрофотографии культуры увеличение 100х		
Время удвоения клеток, ч	28±5	43±6*
Содержание покоящихся Ki67- клеток, %	0,5±0,1	8,4±0,2*
Фазы клеточного цикла, %		
G_0/G_1	52,2±2,2	73,2±2,3*
S	36,6±2,2	16,6±3,4*
G_2/M	11,2±2,6	10,2±2,7
Относительное содержание ОСК, %		
Анализ по фенотипу $CD44^+/CD24^{-/low}$	0,5±0,1	5,5±0,9*
Анализ по популяции SP	1,3±0,5	12,1±1,9*
Анализ по популяции $ALDH^+$	0,3±0,1	3,1±0,5*
Анализ по эффективности клонирования	2,9±0,5	12,0±3,0*

Примечание: * – отличия от 2D-культуры статистически значимы, $p < 0,05$.

Представленные результаты свидетельствуют о целесообразности использования культуры маммосфер при исследовании влияния ионизирующего излучения на ОСК РМЖ *in vitro*.

2.2.2 Сравнение радиочувствительности клеток линии MCF-7, культивируемых в виде 2D-культуры и в виде культуры маммосфер, и радиочувствительности ОСК в этих культурах при действии γ -излучения

Оценку радиочувствительности клеток 2D- и 3D-культуры линии MCF-7 проводили по изменению общего количества клеток и их клоногенной выживаемости, а также по выживаемости ОСК в этих культурах в зависимости от дозы γ -облучения. Количество клеток 2D-культуры подсчитывали через 7 сут, количество клеток маммосфер – через 5 сут после воздействия. По полученным результатам строили дозовые кривые и находили значение D_0

(мера радиочувствительности клеток) и значение D_q (мера способности клеток к репарации сублетальных повреждений). Полученные результаты приведены на рис.1 и в табл. 2.

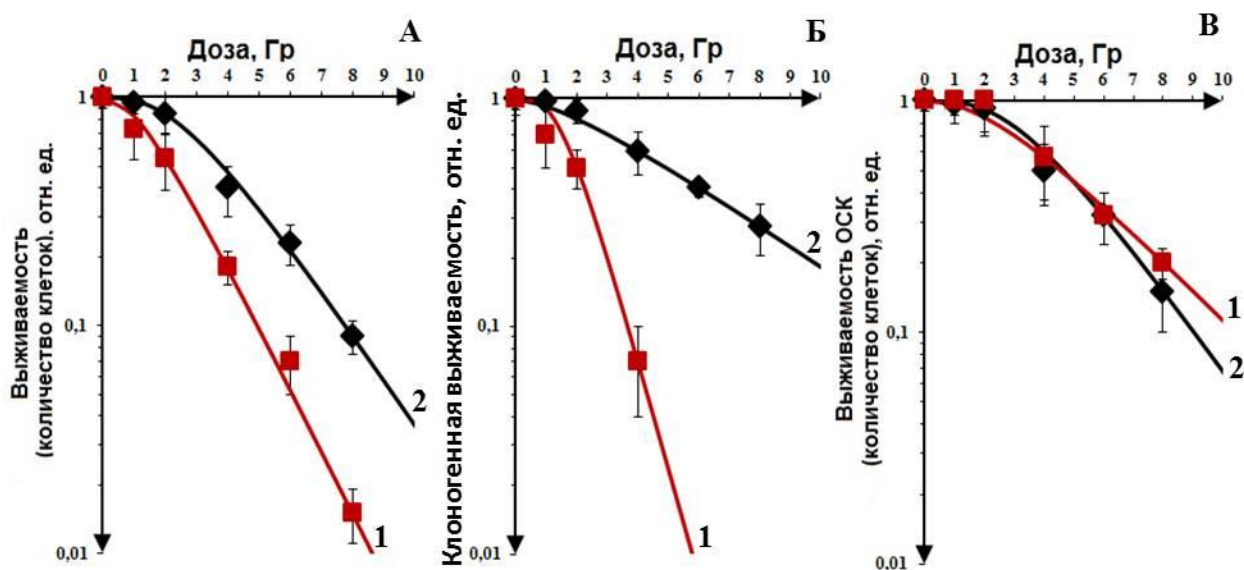


Рисунок 1 – Дозовая зависимость выживаемости всей популяции клеток и ОСК линии MCF-7 при разных способах культивирования. А – оценка по количеству клеток; Б – оценка по клоногенной выживаемости, В – выживаемость ОСК, оцениваемая по их количеству. 1 – культивирование в виде 2D-культуры; 2 – культивирование в виде 3D-культуры.

Таблица 2 – Радиочувствительность клеток 2D- и 3D-культуры линии MCF-7 и ОСК в этих культурах при действии γ -излучения

Клетки линии MCF-7	Радиочувствительность клеток			
	2D-культура		3D-культура	
	D_0 , Гр	D_q , Гр	D_0 , Гр	D_q , Гр
Общая популяция клеток				
- оценка по клоногенной выживаемости	$0,9 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,4$	$4,6 \pm 1,1^*$	$2,2 \pm 0,8$
- оценка выживаемости по количеству клеток	$1,5 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,9$	$2,2 \pm 0,3^*$	$2,8 \pm 0,6$
Опухолевые стволовые клетки				
- оценка выживаемости по количеству клеток	$3,0 \pm 0,5^\#$	$2,8 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,9$

Примечание: * – различия между значениями D_0 для клеток 2D- и 3D-культуры статистически значимы, $p < 0,05$; # – различия между значениями D_0 для клеток 2D-культуры и ОСК 2D-культуры статистически значимы, $p < 0,05$.

Представленные данные позволяют заключить следующее.

1. Радиоустойчивость ОСК линии MCF-7 при культивировании клеток в виде 2D-культуры по величине D_0 в два раза превышает радиоустойчивость общей популяции клеток 2D-культуры.
2. Радиоустойчивость ОСК линии MCF-7 при культивировании клеток в виде 3D-культуры по величине D_0 не отличается от радиоустойчивости общей популяции клеток 3D-культуры.
3. Радиочувствительность ОСК линии MCF-7 при культивировании клеток в виде 2D- и 3D-культуры при действии γ -излучения одинакова, несмотря на

более высокую радиоустойчивость общей популяции клеток маммосфер, чем клеток 2D-культуры.

2.2.3 Характеристика радиочувствительности клеток маммосфер и ОСК маммосфер линии MCF-7 при действии γ ,n-излучения

Для оценки чувствительности клеток культуры маммосфер к действию γ ,n-излучения анализировали количество клеток и их клоногенную выживаемость, а также количество ОСК маммосфер в зависимости от дозы облучения. Полученные значения D_0 и D_q и значения ОБЭ γ ,n-излучения представлены на рис. 2 и в табл. 3.

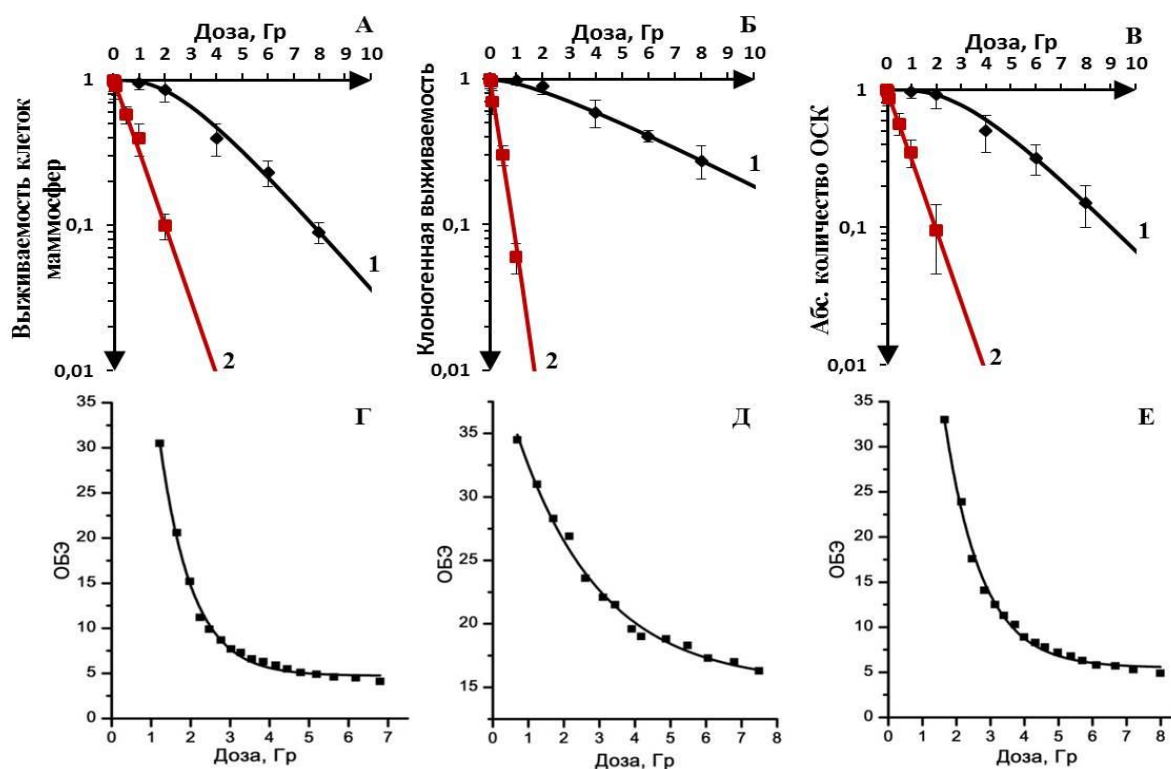


Рисунок 2 – Выживаемость клеток маммосфер, оцениваемая по количеству клеток (А) и их клоногенной выживаемости (Б), и выживаемость ОСК маммосфер, оцениваемая по их абсолютному количеству (В), в зависимости от дозы γ - (1) и γ ,n-облучения (2) и ОБЭ γ ,n-излучения при анализе выживаемости клеток маммосфер по их количеству (Г) и клоногенной выживаемости (Д) и по выживаемости ОСК (Е) в зависимости от дозы.

Кривые 1 дублируют результаты, представленные на рис. 1.

Таблица 3 – Характеристика чувствительности клеток культуры маммосфер линии MCF-7 и ОСК в этой культуре к действию γ ,n-излучения

Клетки культуры маммосфер	Радиочувствительность	
Выживаемость клеток всей культуры	D_0 , Гр	D_q , Гр
- оценка по клоногенной выживаемости	$0,35 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,02$
- оценка по абсолютному количеству клеток	$0,85 \pm 0,04$	$0,05 \pm 0,01$
Выживаемость ОСК		
- оценка по абсолютному количеству клеток	$0,84 \pm 0,12$	$0,04 \pm 0,01$

Полученные значения D_0 и D_q (рис. 1 и 2 и табл. 2 и 3) при действии γ - и γ, n -излучения свидетельствуют о значительно более высокой чувствительности клеток культуры маммосфер и ОСК в их составе к действию γ, n -излучения, чем γ -излучения. Наиболее высокие значения ОБЭ обнаружены для интервала низких доз.

Присутствие плеча на дозовых кривых, полученных при γ -облучении клеток свидетельствует о способности клеток маммосфер частично репарировать сублетальные повреждения. При γ, n -облучении дозовые кривые соответствовали линейной зависимости без плеча (обнаружены лишь очень низкие значения D_q), что свидетельствует об очень низкой способности клеток маммосфер к репарации повреждений, индуцированных γ, n -излучением.

Исследование отдаленных последствий облучения клеток маммосфер показало, что при γ -облучении снижение клоногенной выживаемости обнаружено только у тех клеток, родительские клетки которых были облучены в дозах свыше 2 Гр. В то же время при γ, n -облучении клоногенная выживаемость клеток, выживших к 5-м суткам, значительно снижалась уже после облучения родительских клеток в дозе 0,5 Гр (и выше). Эти данные свидетельствуют о сохранении у выживших потомков облученных клеток части нерепарированных повреждений, количество которых зависит от дозы и качества излучения и может приводить к подавлению способности ОСК к пролиферации и гибели части клеток в отдаленный период после облучения.

Более глубокое повреждение ДНК клеток при облучении нейтронами связано с образованием труднорепазируемых кластерных повреждений ДНК и сложных ДР ДНК. Образование и динамика репарации ДР ДНК, регистрируемых по уровню гистона $\gamma H2AX$ в клетках маммосфер после γ - и γ, n -облучения, показаны на рис. 3 и 4.

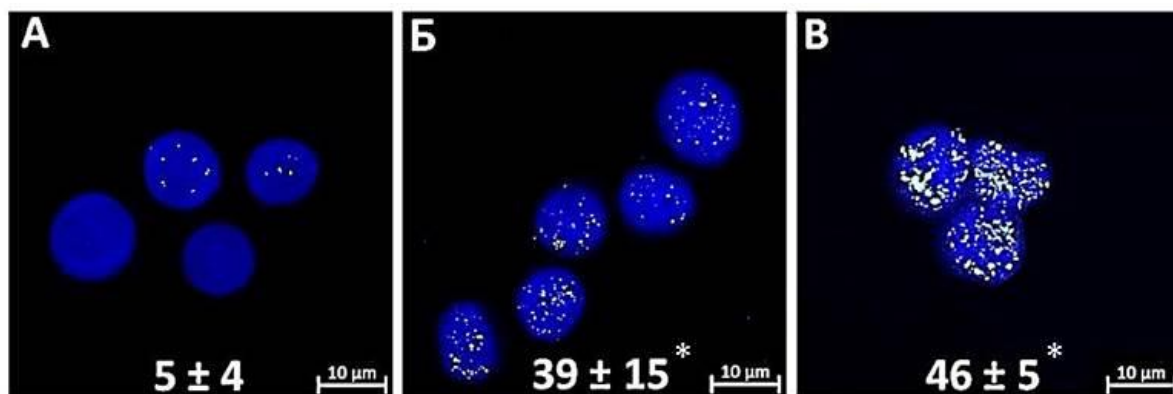


Рисунок 3 – Примеры определения фокусов гистона $\gamma H2AX$ в ядрах клеток 3D-культуры линии MCF-7 с помощью конфокальной микроскопии в необлученных клетках (А) и через 1 ч после γ -облучения в дозе 2 Гр (Б) или нейтронами в дозе 1 Гр (В). Цифрами указано среднее число фокусов на ядро.

* – $p < 0,05$ при сравнении с контролем.

При γ ,n-облучении клеток маммосфер показано образование более высокого уровня ДР ДНК на единицу дозы (рис. 3 и 4), более медленная их репарация (рис. 4) и появление более крупных фокусов (рис. 3), чем при действии γ -излучения. Кроме того, при γ ,n-облучении в дозе 2 Гр через 24 ч после воздействия обнаружено сохранение остаточных нерепарированных ДР ДНК (рис. 4Б).

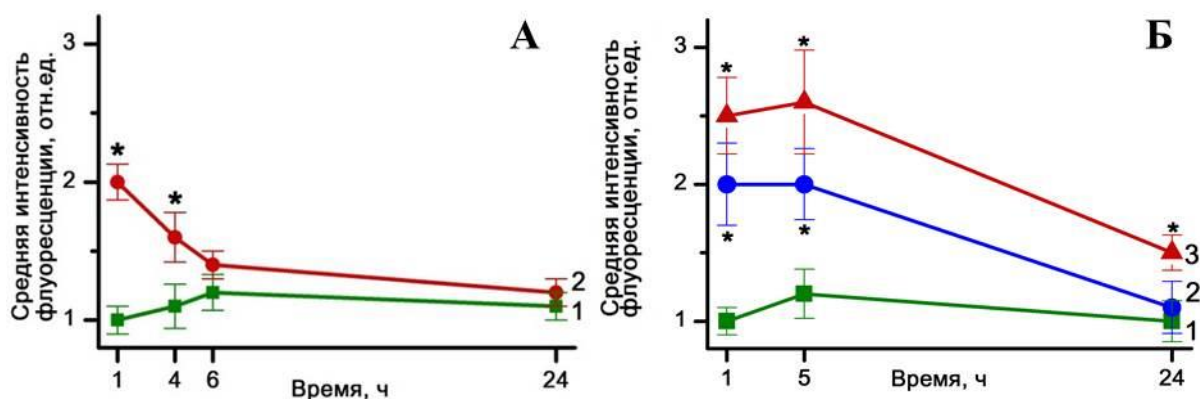


Рисунок 4 – Уровень ДР ДНК в клетках 3D-культуры линии MCF-7 в динамике после воздействия γ - (А) и γ ,n-излучения (Б). Дозы облучения: А: 1 – 0 Гр, 2 – 2 Гр; Б: 1 – 0 Гр, 2 – 1 Гр, 3 – 2 Гр. За единицу принята средняя интенсивность флуоресценции клеток контрольной культуры через 1ч культивирования. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем.

Таким образом, клетки маммосфер и ОСК линии MCF-7 относительно радиоустойчивы к действию γ -излучения, но высоко чувствительны к чувствительны к γ ,n-излучению.

2.2.4. Исследование возможности снижения радиоустойчивости клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7 при использовании лекарственных средств, обладающих активностью ингибиторов сигнальных путей

2.2.4.1. Противоопухолевый препарат доцетаксел

Механизм действия противоопухолевого препарата доцетаксела связан с изменением скорости и степени полимеризации микротрубочек, что приводит к дефосфорилированию рецептора EGF, блоку клеточного цикла и ингибированию пролиферации клеток, а также к снижению активности сигнального каскада PI3K/АКТ, участвующего в поддержании ОСК.

В предварительных экспериментах было показано, что гибель клеток маммосфер под действием доцетаксела значительно возрастает при увеличении времени культивирования с 72 ч ($IC_{50} > 100$ нмоль/л) до 120 ч ($IC_{50} = 2,4 \pm 0,7$ нмоль/л) и связана с блоком клеточного цикла в G_2/M -фазе.

Культивирование клеток маммосфер с доцетакселом в течение 120 ч приводило к дозозависимому значимому уменьшению доли ОСК в культуре с

5,5±0,9% до 3,0±1,0%, 2,8±0,5% и 1,8±0,2% при концентрации препарата 1, 10 и 100 нмоль/л соответственно. Клоногенная выживаемость клеток маммосфер после длительного культивирования в присутствии доцетаксела также снижалась пропорционально его концентрации, что соответствует снижению доли ОСК в культуре.

На рис. 5 представлены данные анализа влияния доцетаксела на радиочувствительность клеток маммосфер.

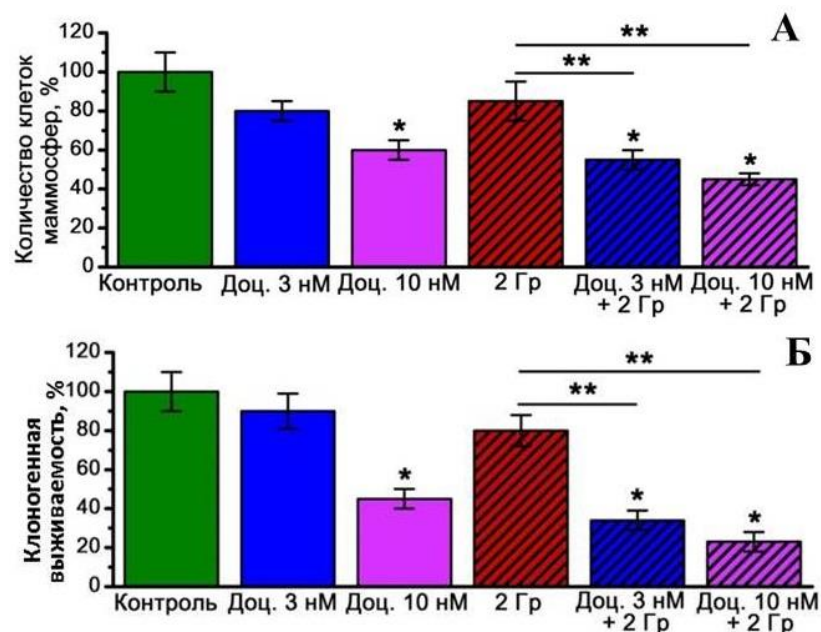


Рисунок 5 – Чувствительность клеток 3D-культуры линии MCF-7 к γ -облучению, оцениваемая по их количеству (А) и клоногенной выживаемости (Б), через 5 сут после воздействия. Доцетаксел вносили в культуру за 24 ч до облучения, а после облучения клетки отмывали от препарата. Количество клеток в контрольных культурах маммосфер составило 130±10 тыс. клеток; эффективность клонирования контрольных клеток равна 10±2%. * – $p<0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p<0,05$ при сравнении между группами.

В указанных условиях только доза 10 нмоль/л приводила к значимому снижению выживаемости клеток 3D-культуры до 63,2±4,9%. Действие γ -излучения практически не влияло на количество клеток в культуре. Одновременное действие препарата и облучения в дозе 2 Гр приводило к снижению количества клеток до 55,0±4,8% и 45,2±3,3% при концентрации доцетаксела 3 нмоль/л и 10 нмоль/л соответственно (рис. 5А). Аналогичные результаты получены при анализе клоногенной выживаемости клеток (рис. 5Б): при совместном действии доцетаксела в концентрации 3 нмоль/л и 10 нмоль/л и облучения количество маммосфер снижалось до 34,4±5,2% и 23,7±5,4% соответственно. Используемые концентрации доцетаксела соответствуют тем, которые длительно обнаруживаются в крови после его внутривенного введения пациентам.

Таким образом, использование доцетаксела перед облучением позволяет значительно повысить радиочувствительность клеток маммосфер.

2.2.4.2. Противоопухолевый препарат дазатиниб

Механизм противоопухолевого действия дазатиниба связан с ингибированием протеинтирозинкиназ BCR-ABL и киназ семейства SRC. Показано избирательное влияние дазатиниба на ОСК разных линий РМЖ *in vitro*, которое может быть связано с ингибированием рецептора с-KIT регулирующего активность сигнальных каскадов PI3K, AKT, ERK, необходимых для поддержания свойств ОСК.

В предварительных экспериментах найдено, что IC_{50} дазатиниба для клеток маммосфер составляет $6,7 \pm 0,5$ мкмоль/л. Для исследования радиосенсибилизирующей активности этого препарата была выбрана субтоксическая концентрация, равная 2,5 мкмоль/л, при которой дазатиниб практически не влиял на выживаемость клеток маммосфер. Результаты оценки радиосенсибилизирующей активности дазатиниба представлены на рис. 6.

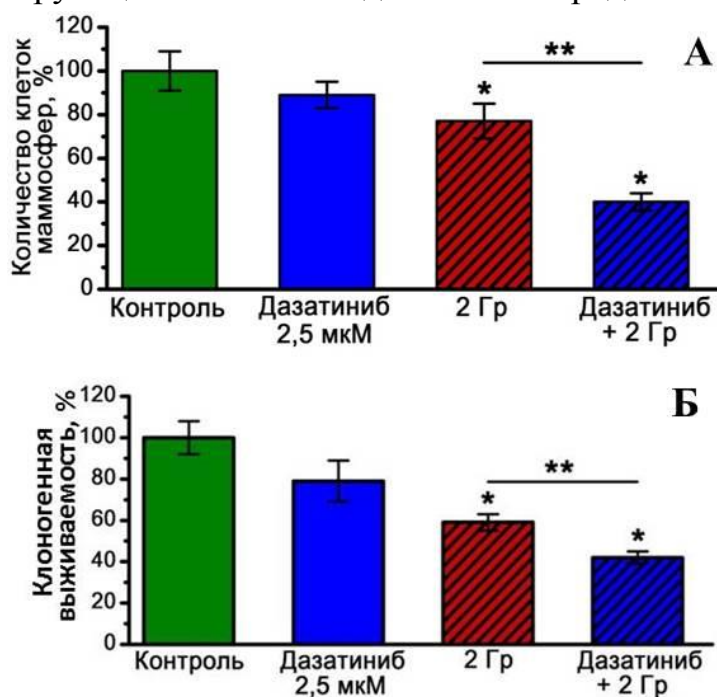


Рисунок 6 – Повышение чувствительности клеток маммосфер к действию γ -излучения при облучении клеток после инкубации с дазатинибом при анализе по изменению количества клеток (А) и по их клоногенной выживаемости (Б).

Дазатиниб в концентрации 2,5 мкмоль/л добавляли к клеткам за 1 ч до облучения. Концентрация препарата сохранялась в течение всего периода культивирования. Количество клеток в контрольных культурах составило 100 ± 10 тыс. клеток; эффективность клонирования контрольных клеток равна $9 \pm 3\%$. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Показано, что при совместном действии дазатиниба и γ -облучении общее количество клеток маммосфер уменьшалось до $40,9 \pm 4,3\%$ относительно контроля, в то время как при действии γ -излучения в дозе 2 Гр – только до $77,4 \pm 8,3\%$ (рис. 6А). Аналогичные данные, свидетельствующие о радиосенсибилизирующем действии дазатиниба, получены при исследовании влияния препарата и γ -излучения на клоногенную выживаемость клеток маммосфер (рис. 6Б).

Полученные результаты позволяют заключить, что использование дазатиниба в субтоксической концентрации позволяет повышать чувствительность клеток маммосфер линии MCF-7 к действию γ -излучения.

2.2.4.3. Противогельминтный препарат никлозамид

Известно, что противогельминтный препарат никлозамид обладает и противоопухолевой активностью, основанной на его способности повреждать митохондрии и ингибировать сигнальные каскады Wnt, NF- κ B, Stat3, Notch, и mTORC1, которые играют важную роль в стимуляции пролиферации ОСК.

Во всех экспериментах по влиянию никлозамида на радиочувствительность клеток препарат использовали в концентрации 2 мкмоль/л, в отношении которой было показано, что она лишь незначительно снижает выживаемость клеток. Препарат добавляли к клеткам за 1 ч до облучения, спустя 24 ч клетки отмывали и культивировали в течение 6 сут. Показано (рис. 7), что в этой концентрации никлозамид не влиял на количество и клоногенную выживаемость клеток маммосфер, но значительно снижал количество ОСК. γ -Облучение в дозе 2 Гр не влияло на количество клеток маммосфер, количество ОСК и клоногенную выживаемость клеток маммосфер, а в дозе 4 Гр вызывало снижение всех анализируемых показателей ($p < 0,05$) относительно контроля.

Использование никлозамида перед облучением клеток в дозе 2 Гр приводило к снижению количества клеток маммосфер до $75,4 \pm 2,7\%$, ОСК – до $52,1 \pm 2,0\%$, а клоногенной выживаемости клеток маммосфер – до $66,7 \pm 3,2\%$ по сравнению с контролем. Облучение клеток маммосфер в дозе 4 Гр в присутствии препарата приводило к значимому дополнительному снижению только абсолютного количества ОСК.

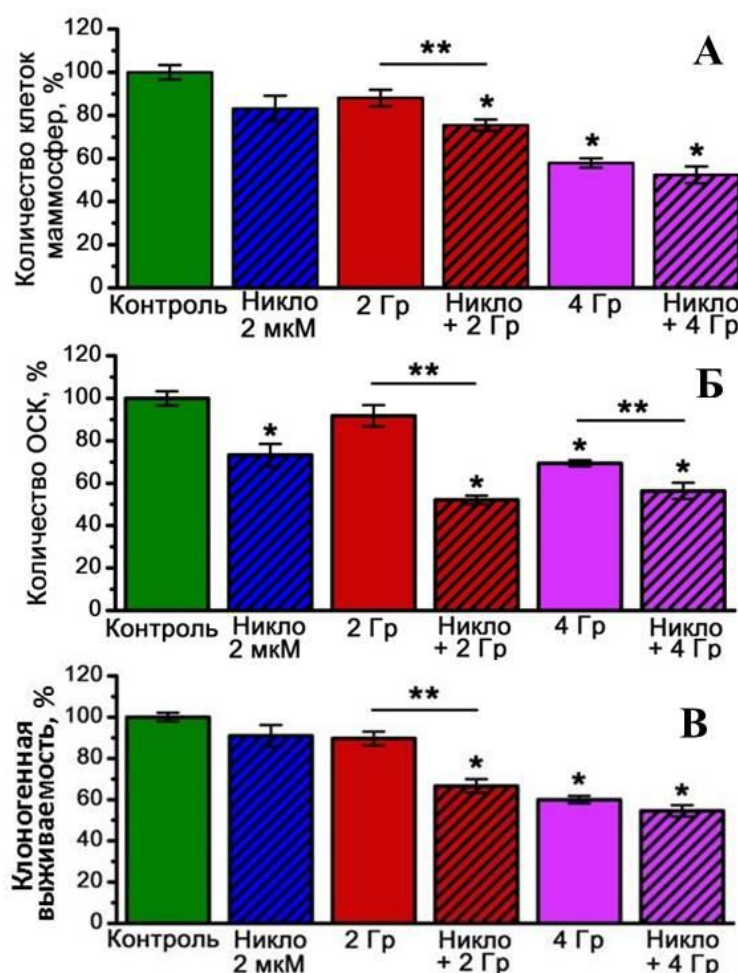


Рисунок 7 – Анализ радиосенсибилизирующего действия никлозамида на культивируемые в виде 3D-культуры клетки линии MCF-7 проводили, оценивая количество клеток маммосфер (А), количество ОСК в составе маммосфер (Б) и клоногенную выживаемость клеток маммосфер (В). Количество клеток в контрольных культурах маммосфер составило 124 ± 8 тыс.; количество ОСК в контрольных культурах маммосфер – $5,1 \pm 0,4$ тыс.; эффективность клонирования контрольных клеток равна $5,5 \pm 0,2\%$. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Для оценки влияния никлозамида на активность сигнального пути Wnt в клетках маммосфер культуры MCF-7 анализировали уровень экспрессии двух белков: β -катенина и Dishevelled-2, участвующих на разных стадиях передачи сигнала при связывании Wnt с рецепторным комплексом.

Использование указанной концентрации никлозамида приводило лишь к незначительному снижению уровня β -катенина (до $89 \pm 9\%$) и увеличению уровня белка Dishevelled-2 (до $116 \pm 10\%$) относительно контроля (рис. 8). После γ -облучения в дозе 2 Гр обнаружено увеличение уровня β -катенина и Dishevelled-2 до 108 ± 2 и $138 \pm 3\%$ относительно контроля соответственно, что свидетельствует о повышении активности сигнального пути Wnt в клетках 3D-культуры под действием облучения.

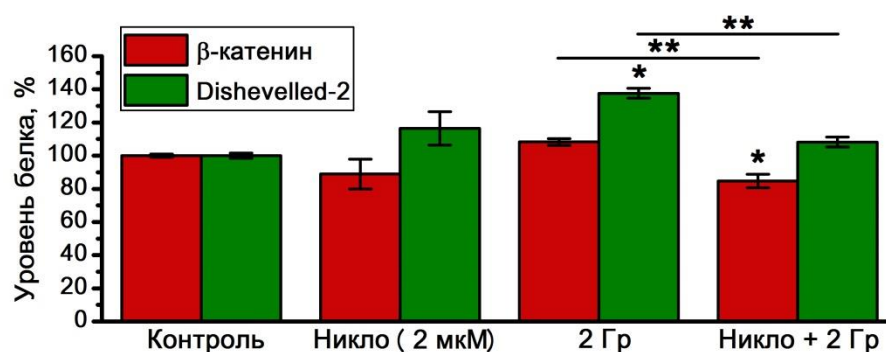


Рисунок 8 – Экспрессия белков системы Wnt β-катенина и Dishevelled-2 в клетках 3D-культуры линии MCF-7 при действии γ-излучения и никлозамида по данным анализа с помощью проточной цитометрии. За 100% принято значение средней интенсивности флуоресценции для каждого из белков в контрольных культурах: $8,6 \pm 0,3$ усл. ед. для β-катенина и $7,8 \pm 0,2$ усл. ед. для Dishevelled-2. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении между группами.

При совместном действии излучения и никлозамида, обнаружено снижение как уровня β-катенина, так и белка Dvl-2 до $85 \pm 4\%$ и $108 \pm 3\%$ соответственно, что позволяет сделать заключение об ингибировании активированного облучением пути Wnt при действии никлозамида.

При исследовании влияния никлозамида на уровень образования и репарации ДР ДНК после облучения показано (рис. 9), что культивирование клеток маммосфер с никлозамидом не изменяло уровень экспрессии белка γH2AX. Действие γ-излучения в дозах 2 и 4 Гр спустя 1 ч приводило к его увеличению до 200 и 340% по сравнению с контролем, а действие излучения в этих дозах после предварительного культивирования клеток с никлозамидом повышало уровень белка γH2AX до 250 и 440% соответственно (рис. 9А).

Через 24 ч после γ-облучения или действия никлозамида уровень остаточных повреждений ДНК, детектируемых по содержанию гистона γH2AX, не отличался от контрольных значений, а при совместном действии никлозамида и облучения в этих дозах уровень ДР ДНК значительно превышал контрольный уровень (рис. 9Б). Полученные результаты свидетельствуют о неполном восстановлении уровня ДР ДНК после γ-облучения в присутствии никлозамида и позволяют констатировать способность этого препарата ингибировать репарацию γ-индуцированных ДР ДНК в клетках маммосфер линии MCF-7.

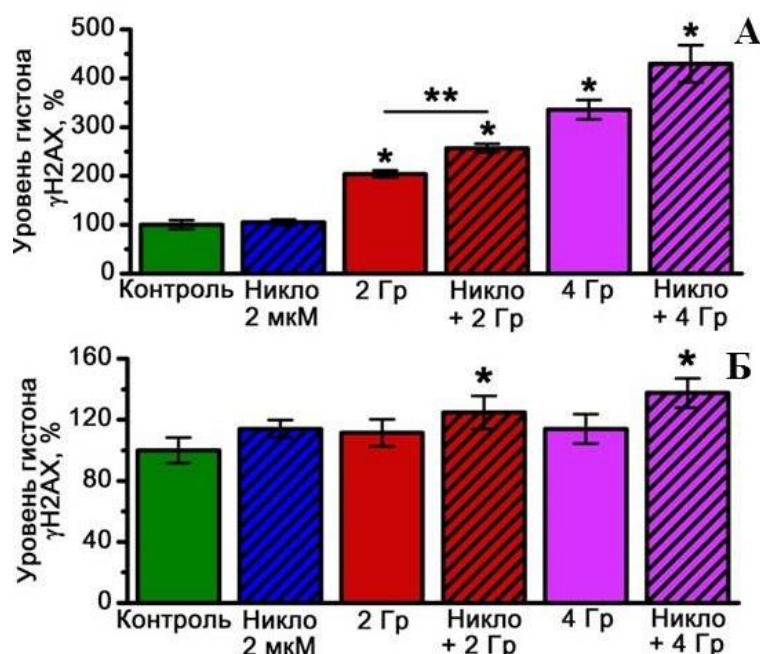


Рисунок 9 – Относительное содержание ДР ДНК, оцениваемое по уровню гистона γ H2AX, в клетках 3D-культуры линии MCF-7 после действия γ -излучения и никлозамида через 1 ч (А) и 24 ч (Б) после радиационного воздействия по данным проточной цитометрии. Никлозамид в концентрации 2 мкмоль/л добавляли к клеткам за 1 ч до облучения. За 100% принимали среднюю интенсивность флуоресценции окрашенных антителами к γ H2AX клеток в контрольных культурах. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Таким образом, радиосенсибилизирующее действие никлозамида обусловлено его способностью снижать уровень самообновления ОСК, ингибировать активированный после облучения путь Wnt, увеличивать образование ДР ДНК и ингибировать их репарацию.

2.2.4.4. Противодиабетический препарат метформин

Для противодиабетического препарата метформина известна высокая противоопухолевая активность, в том числе способность ингибировать пролиферацию ОСК, повышать эффективность действия противоопухолевых препаратов и облучения в отношении опухолевых клеток разных линий, что может быть связано с его способностью ингибировать сигнальные пути PI3K/AKT/mTOR и MEK/ERK1/2.

В предварительных экспериментах была подобрана субтоксическая концентрация метформина, равная 0,25 ммоль/л, которую использовали во всех последующих экспериментах.

Изменение радиочувствительности клеток маммосфер линии MCF-7 и ОСК в их составе под влиянием метформина оценивали по их выживаемости как при действии γ -квантов, так и при облучении нейтронами. Метформин

добавляли к клеткам за 1 ч до воздействия. Через 24 ч после облучения клетки отмывали от препарата и продолжали культивировать в течение 5 сут. Полученные результаты представлены на рис. 10А и Б.

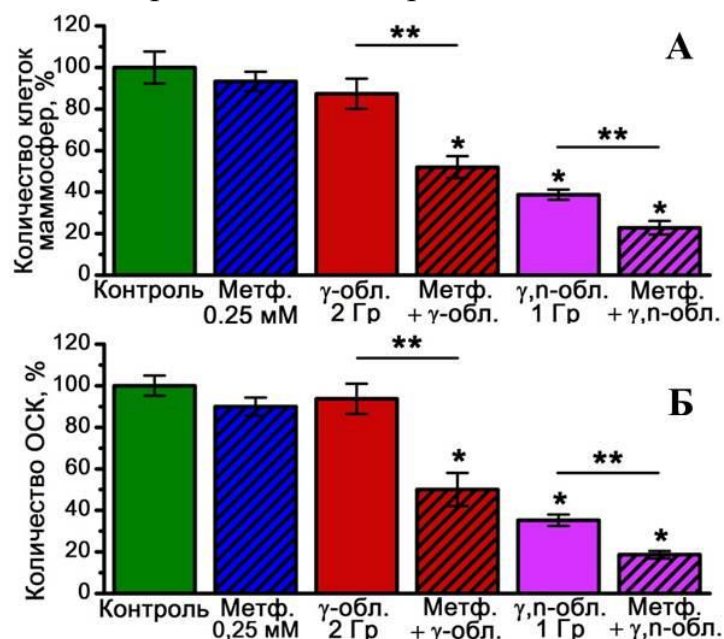


Рисунок 10 – Анализ радиосенсибилизирующего действия метформина при γ -облучении и облучении нейтронами, оцениваемого по количеству клеток маммосфер (А) и по количеству ОСК в них (Б). Количество клеток в контрольных культурах маммосфер составило 110 ± 9 тыс. клеток; количество ОСК в контрольных культурах маммосфер – 6 ± 1 тыс. клеток. * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении между группами.

После γ -облучения общее количество клеток маммосфер линии MCF-7 и количество ОСК в их составе значимо не изменялось по сравнению с контролем. Метформин в указанной концентрации не снижал количество клеток. В то же время γ ,п-излучение приводило к значимому снижению общего количества клеток маммосфер и количества ОСК по сравнению с контролем. Метформин, внесенный в культуру маммосфер перед облучением, повышал чувствительность клеток как к γ -, так и к γ ,п-облучению, что следует из показанного снижения количества клеток маммосфер и ОСК по сравнению с действием только излучения. Общее количество клеток маммосфер после действия метформина и γ - или γ ,п-излучения уменьшилось до $51,9 \pm 5,3\%$ и до $22,8 \pm 3,3\%$ по сравнению с контролем. При этом количество ОСК в составе маммосфер при совместном действии метформина и γ -излучения снижалось до $50,1 \pm 7,9\%$, а при действии препарата и γ ,п-излучения – до $18,7 \pm 1,8\%$ относительно контроля. Представленные результаты позволяют заключить, что метформин в нетоксичной концентрации повышает чувствительность как опухолевых клеток РМЖ, так и ОСК и к редко-, и к плотноионизирующему излучению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ радиочувствительности клеток РМЖ линии MCF-7 позволил установить, что, несмотря на то, что клетки, культивируемые в виде маммосфер, более радиоустойчивы, чем клетки 2D-культуры, радиочувствительность ОСК в этих культурах одинакова. Радиоустойчивость клеток маммосфер коррелировала с более высоким содержанием ОСК. Это позволяет полагать, что культура клеток в виде маммосфер содержит значительную долю пролиферирующих ранних клеток-потомков ОСК, коммитированных к дифференцировке и уже утративших маркеры ОСК, но еще сохраняющих высокую радиоустойчивость. А поскольку, как мы показали, культура маммосфер содержит в 10 раз большее количество радиорезистентных ОСК, чем 2D-культура, то и количество ранних потомков ОСК в такой культуре выше, что определяет более высокую резистентность культуры маммосфер. Поэтому анализ радиочувствительности маммосфер отражает радиочувствительность ОСК в такой культуре.

Большой интерес к нейтронной терапии делает актуальной проблему изучения биологического действия нейтронов в диапазоне терапевтических доз (1,2–1,8 Гр для реакторных нейтронов). Полученные данные об изменении величины ОБЭ в зависимости от дозы могут быть полезны для планирования лучевой терапии и учитываться при разработке рекомендаций радиационной защиты.

Установленные механизмы высокой радиоустойчивости клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7 к действию γ -излучения свидетельствуют о необходимости разработки способов повышения эффективности ЛТ для лечения резистентных опухолей. Наряду с развитием методов, основанных на использовании плотноионизирующих излучений, включая нейтроны, целесообразно развитие методов комбинированной химиолучевой терапии, направленной на повышение чувствительности ОСК к действию γ -излучения.

Полученные нами результаты свидетельствуют о перспективности использования для этих целей ряда противоопухолевых препаратов, таких, как доцетаксел и дазатиниб, которые в субтоксических концентрациях позволяют снизить радиорезистентность опухолевых клеток и ОСК. Противогельминтный препарат никлозамид также обладает такой активностью, однако низкая растворимость и биодоступность этого препарата ограничивает перспективы его использования. Особенно перспективным для повышения радиочувствительности РМЖ представляется использование хорошо известного нетоксичного противодиабетического препарата метформина, радиосенсибилизирующее действие которого показано нами как в отношении клеток маммосфер, так и ОСК линии MCF-7. Эти результаты

свидетельствуют о целесообразности проведения доклинических исследований эффективности изученных препаратов в качестве радиосенсибилизаторов при ЛТ РМЖ.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что радиочувствительность ОСК аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 одинакова при культивировании клеток в виде маммосфер и в виде 2D-культуры, несмотря на более высокую радиоустойчивость клеток маммосфер.

2. Установлены значения параметров D_0 и D_q для клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7, которые свидетельствуют о высокой устойчивости этих клеток к действию γ -излучения и высокой чувствительности к действию γ, n -излучения.

3. Обнаружено, что высокая чувствительность клеток маммосфер к действию γ, n -излучения, в отличие от γ -излучения, определяется низкой скоростью репарации индуцированных нейтронами ДР ДНК, глубоким ингибированием пролиферации и высоким уровнем апоптоза клеток.

4. Показано, 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 снижается с 31 до 5 при анализе выживаемости по количеству клеток и с 35 до 17 при анализе клоногенной выживаемости.

5. При использовании противоопухолевых препаратов доцетаксел и дазатиниб перед γ -облучением в субтоксических концентрациях обнаружено повышение радиочувствительности клеток маммосфер линии MCF-7.

6. Использование противогельминтного препарата никлозамида перед облучением позволяет повысить чувствительность клеток маммосфер и ОСК линии MCF-7 к действию γ -излучения.

7. Установлено, что противодиабетический препарат метформин эффективно повышает чувствительность ОСК и клеток маммосфер линии MCF-7 к действию как γ -, так и γ, n -излучения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК – №1–5 и 7

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. (Шуватова 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., Сёмочкина 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 клонотическая 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.