

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Алхаддад Лины
на тему: «Клеточно-молекулярные механизмы радиорезистентности
немелкоклеточного рака легких и мультиформной глиобластомы человека» по
специальности 1.5.1 – «Радиобиология»

Приобретение радиорезистентности опухолевыми клетками после проведения курса лучевой терапии и, как следствие, снижение ее эффективности и стимулирование вторичного роста (рецидива) – важный и нерешенный пока вопрос как клинической радиологии, так и фундаментальной радиобиологии. Повышенная радиорезистентность опухолевых стволовых клеток, особенно в ответ на редкоизирующее облучение, к настоящему времени уже доказана, и существует несколько гипотез, объясняющих установленный факт. Для решения этой проблемы и эффективного воздействия на опухоль современная наука движется сразу в нескольких направлениях. Сюда относится, например, применение в клинической практике высокоионизирующих излучений, благодаря значительному развитию ускорительной техники, либо воздействие на радиочувствительность/радиорезистентность опухолевых клеток с помощью новых видов адьювантной химиотерапии. Однако для этого необходимо изучать механизмы и процессы, происходящие в опухолевых клетках в течение и после курса облучения и приводящие к увеличению резистентности, на клеточном и молекулярном уровнях. Широкие возможности для разностороннего и подробного исследования этих механизмов дает применение клеточных опухолевых культур *in vitro*, чему и посвящена настоящая работа. Из сказанного выше очевидно, что представленные в диссертационной работе исследования являются актуальными.

Рассматриваемая диссертация изложена на 182 страницах и состоит из «Введения», «Обзора литературы», главы, посвященной характеристике использованных материалов и методов исследования, главы с изложением полученных собственных результатов, включающей шестнадцать подразделов, «Обсуждения», «Выводов», «Списка литературы», включающего в общей сложности 370 источников, имеется список использованных сокращений.

Во «Введении» с достаточной степенью полноты раскрываются актуальность, научная новизна и практическая значимость осуществленных исследований в связи с поставленными целью и задачами. Особо подчеркивается необходимость исследования механизмов вызванного облучением стресс-индуцированного преждевременного старения

клеток как способа сохранения жизнеспособности опухолей и воздействия на них с целью повышения эффективности лучевой терапии.

В обзоре литературы представлена развернутая картина наиболее общих закономерностей и механизмов, лежащих в основе проявления отдаленных рецидивов после курса лучевой терапии у пациентов с радиорезистентными опухолями на примере немелкоклеточного рака легкого и глиобластомы. Подробно рассмотрены влияние на благоприятный/неблагоприятный исход лечения таких параметров, как гетерогенность и пластичность опухоли, роль опухолевых стволовых клеток, эпителиально-мезенхимальный переход, процессы репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК и клеточного старения, сохранение жизнеспособности опухоли за счет образования многоядерных и полиплоидных гигантских клеток.

В целом, обзор литературы достаточно полно и на хорошем профессиональном уровне отражает современное состояние вопросов, имеющих отношение к теме диссертации, и позволил автору обосновать необходимость и актуальность предпринятого исследования.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны методы культивирования используемых клеточных культур, постановки и осуществления экспериментов с фракционированием дозы, что явно оправдано в связи с поставленной задачей получить радиоустойчивые субклинки клеток и охарактеризовать особенности их адаптационного ответа на радиоиндуцированный стресс. Также тщательно изложены все примененные методики исследования и анализа изучаемых клеточных и молекулярных механизмов в ответ на фракционированное облучение. В целом глава «Материалы и методы» отражает стремление диссертанта дать очень подробное методическое обоснование своей работы.

В главе «Результаты исследований» автор основное внимание уделила изучению на двух модельных опухолях *in vitro* различных клеточных молекулярных механизмов радиорезистентности. Для этого были использованы разнообразные методические подходы исследования: клоногенная активность, в том числе независимый от прикрепления к субстрату рост клеток, миграционная, пролиферативная активность и активность оксидоредуктаз, количественный анализ экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, транскрипционных факторов семейства p53, оценка доли гигантских клеток и клеточного старения. Приведены и проанализированы результаты, полученные в трех независимых экспериментах при фракционированном облучении клеток немелкоклеточного рака легкого в релевантных дозах и режимах, а также при однократном воздействии рентгеновского излучения в терапевтических дозах на клетки глиобластомы человека.

В главе «Обсуждение» диссертант привлекает данные научной литературы для сравнения их с собственными результатами и теоретического обоснования выдвинутых им положений. Особенно глубокий анализ был проведен для того, чтобы попытаться объяснить возможность специфического гибридного эпителиально-мезенхимального перехода, который может относиться не только к экспрессии канонических маркеров, и ряд механизмов, вовлеченных в формирование полиплоидных клеток после фракционированного облучения радиорезистентных клеточных линий. Было выдвинуто несколько гипотез, в том числе, что повышение доли полиплоидных клеток в радиорезистентных субклинах не связано с наличием p53 и наблюдается вследствие применения любого режима фракционированного облучения через аттенуацию экспрессии p73. Основной вывод заключается в том, что увеличить эффективность конвенциональной лучевой терапии в случае радиорезистентных опухолей можно корректировкой режимов фракционирования на основе анализа уровня экспрессии белков семейства p53 в опухолях *in vitro*, что также минимизирует повреждение коллатеральных тканей пациентов.

Таким образом, полнота и достаточность материала, привлекаемого автором при анализе литературы с целью обоснования актуальности проведения исследования, тщательность методического обеспечения экспериментов и многоплановый анализ полученных экспериментальных результатов, воспроизводимость которых подтверждена в повторных опытах, позволяют считать основные положения и результаты диссертации достоверными и обоснованными. Выводы в целом полно и правильно отражают полученные результаты во всей их совокупности.

По теме диссертации опубликовано 13 работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных WoS и Scopus, и 9 тезисов докладов в сборниках работ отечественных и международных научных конференций. Содержание публикаций соответствует теме диссертационной работы. Автореферат диссертации полностью отражает полученные автором результаты исследований.

В качестве замечаний можно отметить следующее:

1. В главе «Обзор литературы» лучевая терапия радиорезистентных опухолей, в частности глиобластомы и немелкоклеточного рака легкого, рассматривается только в контексте воздействия редкоионизирующим излучением (рентгеновским и гамма-), хотя к настоящему времени накоплен уже достаточный мировой опыт успешного применения плотноионизирующих излучений (ускоренных ионов, нейтронов) именно для лечения опухолей, устойчивых к конвенциональной терапии.

2. При рассмотрении гетерогенности опухолевых клеток автор пишет, что клетки в ответ на лучевую терапию «претерпевают сложную дарвиновскую эволюцию». Однако в цитируемых в данном разделе статьях (ссылки 61 и 68) и в радиобиологии такое понятие/термин в отношении клеток не используется.
3. В главе «Результаты» имеется неточность – два раздела с одинаковыми названиями, 3.7 и 3.14, хотя в разделе 3.7 представлены результаты исследований на линиях клеток A549 и H1299, которые относятся к клеткам немелкоклеточного рака легкого, а не глиобластомы. Вообще, считаю, что аналогичные по способу исследования результаты, но относящиеся к разным культурам, стоило объединить, делая таким образом более удобным их сравнение для разных типов опухолевых клеток.
4. В главе «Обсуждение» дублируется текст главы «Результаты», исключая рисунки и названия разделов и занимая почти половину объема главы: частично – на стр. 89 и 120; 90 и 121; 93 и 121; 97 и 122-123; полностью – на стр. 100-110 и 123-128. Однако в этой главе диссертационной работы полученные результаты должны быть сопоставлены с имеющимися в данном направлении исследованиями и объяснены с точки зрения существующих теорий и представлений, а не изложены повторно. Поскольку в некоторой степени обсуждение полученных результатов приводится непосредственно в главе «Результаты», на мой взгляд, следовало бы озаглавить ее «Результаты и обсуждение» и не повторять текст дважды, а оставшуюся часть главы «Обсуждение» оформить в виде главы «Заключение».
5. Замечание общего порядка. Чтение текста сильно осложняется обилием опечаток и большим количеством аббревиатур, часть которых не приведена в списке сокращений и/или указана то в русско-, то в англоязычном варианте написания, в ряде мест в диссертации имеются пунктуационные и стилистические погрешности.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.1 – «Радиобиология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Алхаддад Лина заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология».

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
лаборатории радиационной биофизики
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Корякина Екатерина Владимировна

« 7 » декабря 2022 г.

Контактные данные:

тел.: 7(910)545 37 34, e-mail: ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защита диссертация:
03.00.01 – «Радиобиология»

Адрес места работы:

249036, г. Обнинск, ул. Королёва, д. 4
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России
Тел.: 8(484)399-70-13; e-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru

Подпись Е.В. Корякиной удостоверяю:

Заведующий отделом кадров
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России



О.В. Ильина

« 7 » декабря 2022 г.