

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Вевиорский Александр Петрович

Поиск биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии онкологических заболеваний на основе данных об их молекулярной гетерогенности и эффективности репарации ДНК

1.5.1. Радиобиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва - 2025

Работа выполнена в отделе динамики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

**Научные
руководители**

Осипов Андреян Николаевич - доктор биологических наук, профессор РАН

Озеров Иван Витальевич - кандидат физико-математических наук

**Официальные
оппоненты**

Васильев Станислав Анатольевич - доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории инструментальной геномики

Комарова Людмила Николаевна - доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинский институт атомной энергетики - филиал НИЯУ МИФИ, руководитель направлений подготовки 06.03.01, 06.04.01, 06.06.01 Биологические науки

Шарапов Марс Галиевич - доктор биологических наук, Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биофизики клетки РАН, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории Механизмов редокс-регуляции клеточных процессов

Защита диссертации состоится «24» декабря 2025 г. в 16:00 на заседании диссертационного совета МГУ.014.6 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1, стр.10, ауд.308. E-mail: severin@radio.chem.msu.ru (А.В. Северин, ученый секретарь диссертационного совета МГУ.014.6). С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3661>

Автореферат разослан « » ноября 2025 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета МГУ.014.6,
кандидат химических наук

Северин А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень разработанности

Лучевая терапия (ЛТ) является одним из основных методов лечения злокачественных новообразований, применяемым более чем у 50% пациентов в течение их болезни, как с лечебной, так и с паллиативной целью [1,2]. ЛТ играет ключевую роль в комплексном лечении рака, значительно увеличивая выживаемость при различных злокачественных новообразованиях [3]. Однако, несмотря на свою эффективность, ЛТ может вызывать значительные побочные эффекты, так как воздействует не только на опухолевые клетки, но и на здоровые ткани организма [3].

Одной из основных проблем ЛТ является радиорезистентность опухолевых клеток, которая ограничивает эффективность лечения и требует более глубокого понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе этого явления [4]. Важную роль в формировании радиорезистентности играют нарушения в системах репарации ДНК, которые позволяют опухолевым клеткам выживать после воздействия радиации. Генетические изменения, влияющие на механизмы репарации ДНК, играют ключевую роль в прогрессировании рака. Дефекты в функционировании механизмов репарации ДНК приводят к геномной нестабильности, то есть к накоплению мутаций и хромосомных нарушений в клетках. Геномная нестабильность является характерной чертой опухолевых клеток и связана с различными наследственными видами онкологических заболеваний [5].

Понимание этих генетических изменений, влияющих на механизмы репарации ДНК и способствующих развитию геномной нестабильности, имеет решающее значение для разработки новых видов таргетной терапии. Одним из перспективных подходов таргетной терапии является использование механизма синтетической летальности (synthetic lethality) - явления, при котором одновременное нарушение двух определённых генов приводит к гибели клетки, тогда как нарушение каждого из них по отдельности не является летальным [6]. В контексте онкологии синтетическая летальность часто реализуется за счёт одновременного ингибирования различных компонентов системы репарации ДНК, однако данный механизм может быть связан и с другими клеточными путями. Такой подход позволяет избирательно уничтожать опухолевые клетки с определенными дефектами репарации, минимально затрагивая здоровые клетки. Для успешного применения таких подходов необходимо глубокое понимание молекулярных особенностей опухолей, что стало возможным благодаря развитию современных мультиомиксных технологий. В этом контексте мультиомиксные подходы произвели революцию в онкологии, предоставляя всестороннее

понимание молекулярных взаимодействий и сигнальных путей, лежащих в основе патогенеза онкологических заболеваний [7].

Полученные с помощью мультиомиксных исследований результаты открывают возможности для разработки новых классов лекарственных препаратов. Низкомолекулярные соединения в качестве противоопухолевых агентов демонстрируют высокую эффективность благодаря способности избирательно воздействовать на ключевые молекулярные мишени, такие как белки сигнальных путей, регуляторы клеточного цикла и компоненты систем репарации ДНК. Терапевтические агенты на основе малых молекул (small molecules - низкомолекулярные органические соединения с молекулярной массой обычно менее 1000 Дальтон) в настоящее время рассматриваются как эффективные и новые противоопухолевые препараты [8]. Малые молекулы способны проникать внутрь клеток и избирательно взаимодействовать с различными белками-мишенями, такими как ферменты, рецепторы и регуляторы сигнальных путей.

Степень разработанности вопроса отражена в многочисленных исследованиях, посвященных молекулярным механизмам радиорезистентности, роли репарации ДНК и применению мультиомиксных подходов в онкологии. Однако, несмотря на значительный прогресс в области мультиомиксных исследований и таргетной терапии, до сих пор остается недостаточно изученным вопрос о том, как молекулярная гетерогенность опухолей и индивидуальные различия в эффективности репарации ДНК влияют на чувствительность опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии. В частности, недостаточно изучены биомаркеры, позволяющие прогнозировать эффективность лучевой терапии и таргетных препаратов, а также механизмы, лежащие в основе различий в чувствительности опухолей к этим видам терапии [9,10].

Таким образом, данное исследование направлено на решение актуальных задач современной онкологии, связанных с поиском биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии. Изучение молекулярной гетерогенности опухолей и механизмов репарации ДНК позволит выявить новые биомаркеры и терапевтические мишени, что станет основой для разработки более эффективных и персонализированных подходов к лечению онкологических заболеваний.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационной работы является разработка интегрированного подхода для выявления биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии, а также идентификации перспективных терапевтических мишеней на основе изучения молекулярной гетерогенности опухолей и механизмов репарации ДНК.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать вариабельность результатов радиотерапии в зависимости от молекулярных характеристик и типа злокачественных новообразований, выявить опухоли с различным ответом выживаемости на лучевую терапию. Разработать подход для поиска биомаркеров радиорезистентности и радиочувствительности злокачественных новообразований различных типов на основе их молекулярных характеристик, применить его для опухолей с относительно высокой летальностью пациентов, прошедших курс лучевой терапии;
2. Разработать методологию поиска молекул - модуляторов репарации ДНК на основе сравнения профилей генной экспрессии клеток после воздействия ионизирующего излучения и физиологически активных веществ из библиотеки СМАР. Исследовать механизм действия обнаруженных модуляторов репарации ДНК, на основе него предложить и валидировать молекулярную мишень для лечения онкологических заболеваний, а также связанный с ней биомаркер чувствительности опухолевых клеток;
3. На основе данных генной экспрессии по редким наследственным заболеваниям, ассоциированным с нарушениями в механизмах репарации ДНК и повышенным риском развития онкологических заболеваний, идентифицировать биомаркеры чувствительности опухолей к существующим таргетным препаратам.

Методология и методы исследования

В работе использованы современные подходы и методы молекулярной онкологии, радиационной биологии и биоинформатики. Анализ научной литературы проводился с использованием международных баз данных (PubMed, Scopus, Web of Science, Elibrary).

Биоинформатическая часть исследования включала сбор и обработку данных о генной экспрессии, вариациях числа копий генов (CNV), точечных мутациях и выживаемости пациентов из баз данных TCGA, GEO и ArrayExpress. Для анализа дифференциальной экспрессии генов использовался алгоритм limma. Анализ активации и обогащения сигнальных путей проводился с помощью алгоритмов iPANDA и gseapy на основе базы данных Reactome. Для оценки выживаемости пациентов применялся метод Каплана–Майера с использованием log-rank теста. Также была проведена иерархическая кластеризация фенотипических признаков и экспрессионных профилей редких наследственных заболеваний. Для идентификации потенциальных терапевтических мишеней использовался интегративный подход, объединяющий омиксные и текстовые данные, а также экспертные оценки. Разработан алгоритм поиска низкомолекулярных соединений, модулирующих

процессы репарации ДНК, и подход для выявления синтетически летальных пар генов на основе интеграции данных о мутациях и экспрессии генов.

Экспериментальная часть работы включала культивирование 129 линий опухолевых и нормальных клеток человека, высокопроизводительный скрининг с использованием малых интерферирующих РНК (siRNA) для 582 генов с последующей оценкой фокусов γ H2AX и 53BP1, анализ повреждений ДНК методом ДНК-комет (Comet-Chip), иммуноцитохимическое изучение кинетики репарации ДНК, иммуноблоттинг для анализа уровней белков и оценку ферментативной активности белков. Статистическая обработка и визуализация данных проводились с использованием открытых библиотек языка программирования Python.

Научная новизна и практическая значимость работы

Впервые установлена роль гена *CEP135* как прогностического биомаркера для стратификации пациентов с саркомой. Показано, что его высокая экспрессия коррелирует с неблагоприятным прогнозом, а связанная с ним активация сигнального пути PLK1/G2-M открывает новые возможности для таргетной терапии. Разработан алгоритм поиска низкомолекулярных модуляторов репарации ДНК. Экспериментально подтвержден механизм действия идентифицированного низкомолекулярного соединения (мепакрин) как ингибитора репарации двунитевых разрывов ДНК, заключающийся в нарушении рекрутирования белка 53BP1 к местам повреждения ДНК посредством подавления активности убиквитин-лигаз RNF8/RNF168 через NDRG1 зависимый путь, что ранее не было описано в литературе. Разработан алгоритм поиска биомаркеров чувствительности, обладающих свойством синтетической летальности. Предложенный алгоритм позволил идентифицировать новые синтетически летальные пары генов *NDRG1-PARP3* и *NDRG1-MLH1*. NDRG1 предложена как новая терапевтическая мишень для лечения пациентов с колоректальной карциномой, у которых нарушены функции генов *PARP3* и *MLH1*, что было подтверждено экспериментально в экспериментах на модельных клеточных линиях.

Внедрение биомаркера *CEP135* в клиническую практику позволит проводить предварительную стратификацию пациентов с саркомой и выделять подгруппу, наиболее чувствительную к терапии, направленной на ингибирование PLK1, что может повысить эффективность лечения. Предложенный подход, основанный на анализе транскриптомных и генетических данных, ускоряет процесс идентификации новых биомаркеров чувствительности и новых терапевтических мишеней, а также может быть адаптирован для широкого спектра онкологических заболеваний.

Положения, выносимые на защиту

1. Подходы, основанные на сравнительном анализе транскриптомных и генетических данных больных, прошедших и не прошедших курс лучевой терапии, позволяют идентифицировать биомаркеры радиорезистентности и радиочувствительности. С помощью предложенного подхода было показано, что увеличенное количество копий гена *EGFR* ассоциировано с радиорезистентностью, а мутации в гене *ATR*X с радиочувствительностью у больных с глиомой низкой степени злокачественности;
2. Сравнение транскриптомных ответов на ионизирующее излучение и низкомолекулярные соединения является эффективной стратегией для идентификации новых модуляторов репарации ДНК, которые могут использоваться как инструменты для поиска новых терапевтических мишеней. С помощью предложенной методологии был найден мепакрин как модулятор процессов репарации ДНК, использованный для выявления новой перспективной терапевтической мишени NDRG1 и ассоциированных с ней биомаркеров чувствительности *MLH1* и *PARP3* для колоректальной карциномы;
3. Анализ транскриптомных профилей при наследственных заболеваниях, сопровождающихся нарушением репарации ДНК и высоким риском развития опухолей, позволяет находить биомаркеры чувствительности к таргетной терапии онкологических заболеваний. Применение такого подхода позволило выявить высокий уровень экспрессии гена *CEP135* как прогностический биомаркер для саркомы и обосновать *PLK1* как перспективную мишень для терапии этой подгруппы больных.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.1 Радиобиология по области исследований: Исследование биологического ответа на воздействие ионизирующих излучений; Механизмы формирования молекулярных и клеточных изменений при облучении; Радиобиология опухолей и индивидуальная радиочувствительность.

Степень достоверности

Достоверность результатов работы обеспечивается проведением экспериментов с высокой воспроизводимостью и тщательной статистической обработкой полученных данных. Для достижения заданной вероятности и необходимого уровня статистической достоверности использовалось достаточное количество повторных испытаний. В процессе исследования результаты вычислительных экспериментов подтверждались экспериментальными данными, что усиливает уверенность в их достоверности. Результаты, полученные различными методами, были сопоставлены друг с другом и аналогичными

данными, представленными в литературе. Такой подход обеспечивает высокую степень уверенности в полученных результатах и их значимость для научного сообщества.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в планировании всех экспериментов, а также в обработке, анализе и интерпретации полученных данных. Весь биоинформатический анализ, включая разработку алгоритмов и статистическую обработку экспериментальных данных, был выполнен автором лично. Автор также активно участвовал в написании научных статей и тезисов, представляющих результаты исследования. Личный вклад автора в совместные публикации основополагающий.

Апробация результатов

Основные положения и результаты диссертационной работы представлялись и докладывались на следующих российских и международных научных конференциях: Юбилейная международная научно-практическая конференция "ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России: 75 лет на страже здоровья людей", Россия, Москва, Ноябрь, 2021; MENA Organization for Rare Diseases Annual Meeting, UAE, Dubai, March, 2023; Abu Dhabi Global Healthcare Week (ADGHW), UAE, Abu Dhabi, May, 2024; Международный научно-практический форум молодых ученых и специалистов "Ильинские Чтения 2025", Москва, Февраль, 2025; Abu Dhabi Global Healthcare Week (ADGHW), UAE, Abu Dhabi, May, 2025; 2nd MENA Congress for Preventive Medicine 2025, UAE, Abu Dhabi, May, 2025; RAP 2025 Conference, Greece, Crete, May, 2025; Международная научно-практическая конференция «Генетика и физиология: прошлое, настоящее, будущее» (IGPH2025), Казахстан, Алматы, Май, 2025.

Публикации

Основные результаты, положения и выводы диссертации изложены в 8 научных работах автора, в том числе 4 публикациях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в МГУ имени М.В.Ломоносова по специальности и отрасли наук общим объемом 4 п.л.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 129 страницах печатного текста и содержит 13 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, основных методов и подходов, используемых в работе, результатов и обсуждений, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 209 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы её цель и основные задачи, показаны научная новизна работы и её практическая значимость, а также изложены положения, выносимые на защиту.

Глава 1. Обзор литературы

В главе представлен обзор литературы, посвященный следующим вопросам: 1) Роль лучевой терапии в лечении онкологических заболеваний, её эффективность, ограничения и современные персонализированные подходы; 2) Молекулярные механизмы радиорезистентности и радиочувствительности опухолевых клеток, включая сигнальные пути, программируемую клеточную смерть, репарацию ДНК и иммунный ответ; 3) Генетические нарушения в системах репарации ДНК, их связь с онкогенезом и потенциал использования таких нарушений в качестве биомаркеров для стратификации пациентов; 4) Современные мультиомиксные подходы и биоинформатические методы для идентификации биомаркеров и терапевтических мишеней в онкологии; 5) Поиск и применение низкомолекулярных соединений в качестве противоопухолевых агентов, включая методы *in silico* и примеры успешного применения; 6) Концепция синтетической летальности как перспективная стратегия таргетной терапии, примеры синтетически летальных пар генов и перспективы их использования в лечении рака. Из анализа литературы следует, что поиск новых биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии на основе данных о молекулярной гетерогенности и эффективности репарации ДНК является актуальной задачей и требует дальнейших исследований.

Глава 2. Основные методы и подходы, используемые в работе

В главе представлены основные методы и подходы, примененные в исследовании. Для решения поставленных задач были использованы биоинформатические (*in silico*) и экспериментальные (*in vitro*) методы. В рамках биоинформатического анализа были собраны и обработаны данные о генной экспрессии (транскриптом), фенотипах, выживаемости, вариациях числа копий генов (CNV) и точечных мутациях пациентов с различными типами опухолей из базы данных TCGA (UCSC Xena), а также экспрессионные данные пациентов с редкими наследственными заболеваниями, связанными с дефектами репарации в ДНК и повышенным риском развития онкологических заболеваний, из репозитория GEO и ArrayExpress. Анализ дифференциальной экспрессии генов проводился с использованием алгоритма limma. Для изучения активации и обогащения сигнальных путей применялись алгоритмы iPANDA и gseapy с использованием базы данных Reactome. Анализ выживаемости и стратификации пациентов проводился с помощью метода Каплана–Майера

и log-rank теста. Для выявления потенциальных терапевтических мишеней был использован интегративный биоинформатический подход, объединяющий омиксные и текстовые данные. Для поиска низкомолекулярных модуляторов процессов репарации ДНК использовался анализ сходства экспрессионных профилей после воздействия ионизирующего излучения и обработки малыми молекулами из базы данных LINCS L1000 (библиотека CMAP).

Экспериментальная часть работы включала культивирование клеточных линий человека, высокопроизводительный скрининг клеток с использованием малых интерферирующих РНК (siRNA), анализ выживаемости клеток после обработки мепакрином и облучения, метод ДНК-комет (comet-chip) для оценки повреждений ДНК, иммуноцитохимический анализ фокусов белков репарации ДНК, выделение и анализ гистонов, иммунопреципитацию для изучения белок-белковых взаимодействий, метод DARTS для оценки взаимодействия малых молекул с белковыми мишенями, иммуноблоттинг для анализа уровней белков и анализ ферментативной активности киназ.

Глава 3. Результаты и обсуждение

Для достижения поставленной цели - разработки интегрированного подхода к выявлению биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии, а также идентификации перспективных терапевтических мишеней, в работе были сформулированы задачи, отражающие ключевые аспекты молекулярной гетерогенности опухолей и механизмов репарации ДНК. Несмотря на то, что задачи охватывают различные направления радиобиологии и молекулярной онкологии, все они объединены общей целью - поиск новых биомаркеров и терапевтических мишеней для повышения эффективности лечения опухолей (Рисунок 1). Анализ вариабельности результатов лучевой терапии среди различных типов онкологических заболеваний позволяет выявить молекулярные особенности, определяющие чувствительность или устойчивость к облучению, что важно для оптимизации схем радиотерапии и индивидуального подбора лечения. Разработка подходов к поиску низкомолекулярных модуляторов репарации ДНК и идентификация пар генов с синтетической летальностью расширяют арсенал средств для таргетной терапии, позволяя воздействовать на ключевые уязвимости опухолевых клеток. В свою очередь, изучение редких наследственных заболеваний, связанных с нарушением репарации ДНК, открывает дополнительные возможности для поиска универсальных биомаркеров и терапевтических мишеней, поскольку эти заболевания часто сопровождаются высоким риском злокачественных трансформаций и отражают фундаментальные механизмы канцерогенеза. Таким образом, интеграция результатов по всем направлениям исследования способствует формированию целостного подхода к персонализированной терапии

онкологических заболеваний. Основные результаты, полученные в ходе выполнения работы, представлены ниже.



Рисунок 1. Общая схема системы-подхода, направленного на поиск биомаркеров чувствительности и новых терапевтических мишеней для повышения эффективности лечения злокачественных заболеваний.

3.1. Анализ вариабельности результатов лучевой терапии: сравнение глиомы низкой степени злокачественности и глиобластомы

В данном разделе проведен комплексный анализ вариабельности результатов лучевой терапии среди 32 типов опухолей из базы данных TCGA (Рисунок 2). Особое внимание в исследовании уделено глиобластоме и глиоме низкой степени злокачественности, поскольку эти опухоли относятся к числу наиболее агрессивных и трудно поддающихся лечению форм рака. Кроме того, для этих типов опухолей характерна высокая частота применения лучевой терапии в клинической практике, а также общая линия происхождения, при которой глиобластома часто развивается из глиомы низкой степени злокачественности. В большинстве случаев пациенты с глиобластомой и глиомой низкой степени злокачественности, включённые в исследование, получали стандартную внешнюю фракционированную лучевую терапию с использованием рентгеновского излучения: для глиобластомы - суммарная доза 60 Гр, по 2 Гр за фракцию, 5 раз в неделю; для глиомы низкой степени злокачественности - суммарная доза 50-54 Гр, по 1,8-2 Гр на фракцию, что соответствует клиническим протоколам для этих опухолей. Для оценки влияния лучевой терапии на выживаемость были построены кривые Каплана–Майера и проведен сравнительный анализ общей выживаемости пациентов, получавших и не получавших

лучевую терапию, с использованием log-rank теста. Показано, что пациенты с глиобластомой, получавшие лучевую терапию, демонстрируют улучшение выживаемости. В то же время для пациентов с глиомой низкой степени злокачественности наблюдается противоположная тенденция: пациенты, получавшие лучевую терапию, имеют более низкие показатели выживаемости по сравнению с теми, кто её не получал. Стоит учитывать, что отмеченные различия могут отражать не только влияние лучевой терапии, но и исходные клинические характеристики пациентов. Тем не менее, сравнение групп пациентов, прошедших и не прошедших курс лучевой терапии, является информативным для выявления молекулярных особенностей, ассоциированных с ответом на лучевую терапию.

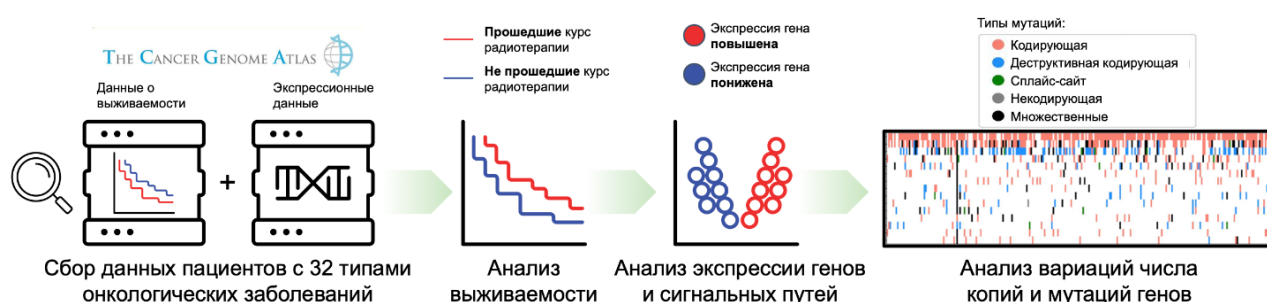


Рисунок 2. Общая схема иллюстрирует этапы исследования: сбор данных о выживаемости и экспрессии генов, анализ выживаемости, анализ экспрессии генов и сигнальных путей, а также анализ вариаций числа копий и мутаций генов

Чтобы на экспрессионном уровне выявить различия между пациентами с глиобластомой и глиомой низкой степени злокачественности, которые могли бы объяснить различия в ответе на лучевую терапию и быть полезными для оптимизации терапии, был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов и сигнальных путей. Для этого были сопоставлены экспрессионные профили больных пациентов, прошедших курс лучевой терапии, и больных пациентов, не получавших облучение, отдельно для пациентов с глиобластомой и глиомой низкой степенью злокачественности. Такой подход позволил выявить различия в регуляции процессов репарации ДНК и иммунного ответа: у пациентов с глиомой низкой степени злокачественности, прошедших лучевую терапию, отмечалась тенденция к активации путей репарации ДНК и снижению активности интерферонового сигналинга, что может способствовать формированию радиорезистентности, поскольку данные сигнальные пути часто ассоциированы с развитием устойчивости к лучевой терапии [11, 12]. На основе анализа мутаций и изменений вариаций числа копий генов у пациентов с глиомой низкой степени злокачественности, прошедших курс радиотерапии, было показано, что мутации в гене *ATRX* ассоциированы с повышенной чувствительностью к лучевой

терапии (улучшение прогноза выживаемости), тогда как амплификация гена *EGFR* связана с ухудшением прогноза выживаемости (пониженная чувствительность к лучевой терапии) после облучения (Рисунок 3), что согласуется литературными данными [13, 14]. Ген *ATRX* участвует в поддержании структуры хроматина и стабильности генома, а его мутации могут приводить к повышенной уязвимости клеток к облучению. Ген *EGFR* кодирует рецептор, активация или увеличение числа копий которого способствует росту и выживанию опухолевых клеток, а его амплификация часто связана с агрессивным течением заболевания и снижением эффективности терапии. Эти молекулярные особенности могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров радиочувствительности и радиорезистентности, что открывает возможности для более точной стратификации пациентов и персонализированного подбора терапии.

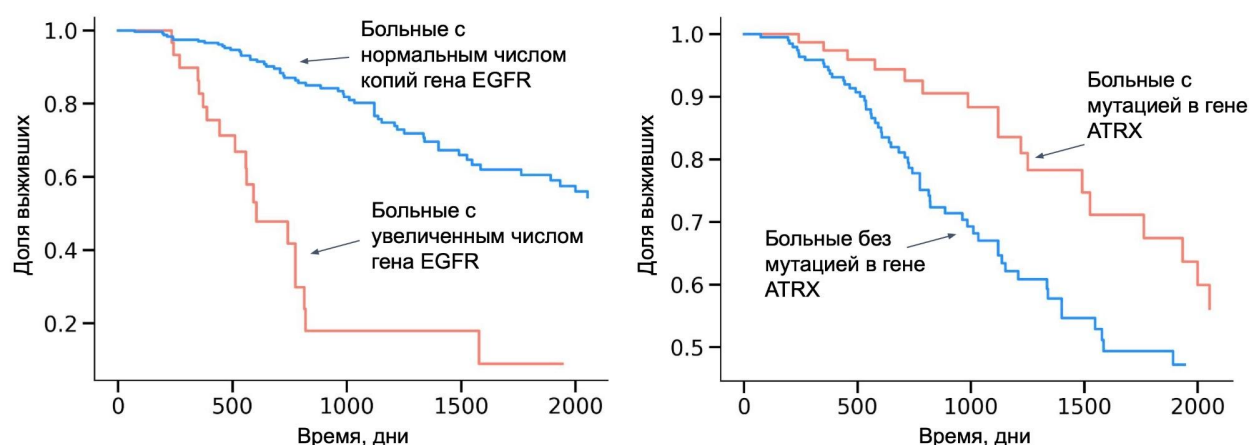


Рисунок 3. Кривые выживаемости пациентов с глиомой низкой степени злокачественности, прошедших курс радиотерапии. Слева, сравнение группы пациентов, у которых наблюдается увеличенной число копий гена *EGFR* (красная кривая) с группой пациентов, у которых не наблюдается отклонений в изменении числа копий гена *EGFR* (синяя кривая). Справа, сравнение группы пациентов, у которых были обнаружены мутации в гене *ATRX*, приводящие к нарушению функций белка - продукта гена *ATRX* (красная кривая) с группой пациентов, у которых не наблюдалось мутаций в гене *ATRX* (синяя кривая). Статистическая достоверность рассчитана с помощью log-rank теста.

Полученные результаты подчеркивают важность дальнейшего изучения молекулярных механизмов радиочувствительности и радиорезистентности для разработки персонализированных подходов к лечению опухолей мозга.

3.2. Поиск низкомолекулярных модуляторов репарации ДНК и идентификация синтетически летальных пар генов для таргетной терапии

В данном разделе представлен подход к поиску низкомолекулярных соединений, способных модулировать процессы репарации ДНК, определение их мишеней и идентификации синтетически летальных пар генов для таргетной терапии (Рисунок 4).

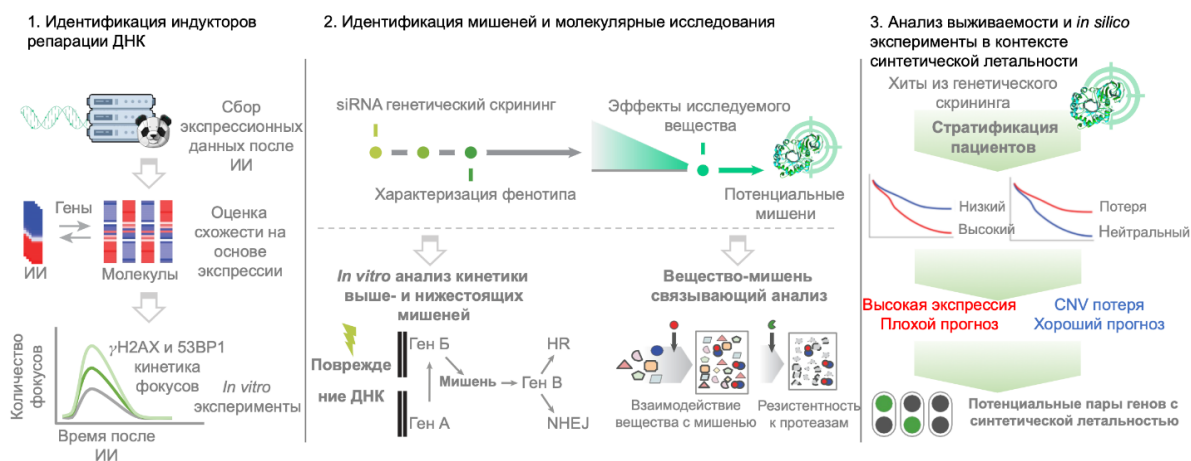


Рисунок 4. Биоинформатический скрининг и экспериментальная характеристика низкомолекулярных модуляторов ответа на повреждение ДНК. Общая схема эксперимента: (1) идентификация низкомолекулярных соединений, модулирующие процессы репарации ДНК, (2) идентификация белков - мишеней, (3) выявление чувствительных типов опухолей и пар генов обладающих синтетической летальностью.

На первом этапе был проведен биоинформатический скрининг, основанный на сравнении транскриптомных профилей клеток (более 2000 образцов), подвергшихся воздействию фотонного ионизирующего излучения высокой мощности в диапазоне поглощенных доз от 2 до 10 Гр через 24 часа после облучения, и транскриптомных профилей клеток, которые инкубировали с различными низкомолекулярными соединениями (более 2000 уникальных малых молекул) в концентрации 10 μ M в течении 24 часов. Описанные выше транскриптомные профили клеток были взяты из открытых репозиторий. Такой подход позволил получить ранжированный список низкомолекулярных соединений, способных модулировать процессы репарации ДНК (Рисунок 5, А). В результате этого анализа для дальнейших исследований на клетках было выбрано низкомолекулярное соединений мепакрин.

Экспериментальная проверка на клетках показала, что мепакрин подавляет образование фокусов 53BP1, при этом увеличивая количество фокусов γ H2AX и MDC1, что свидетельствует об модуляции процессов репарации ДНК. Дополнительно было показано, что обработка клеток мепакрином приводит к снижению уровней убиквитинлигаз RNF8 и

RNF168, что сопровождается нарушением рекрутирования ключевых белков репарации ДНК (BRCA1, RAD51, 53BP1) и изменением работы сигнальных путей, ответственных за восстановление поврежденной ДНК (Рисунок 5, Б).

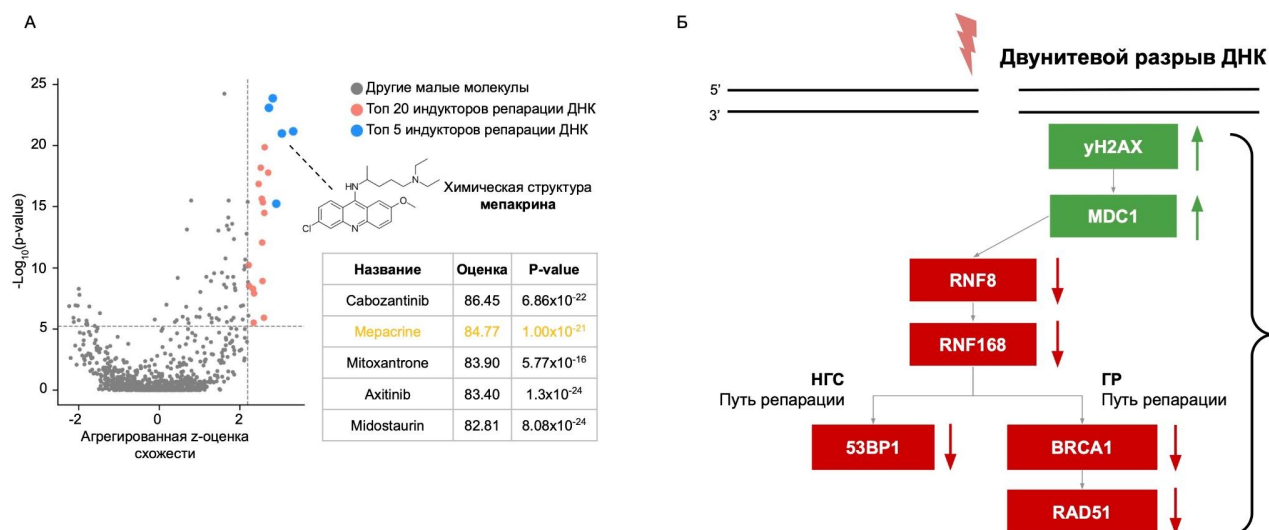


Рисунок 5. А - Ранжированный список низкомолекулярных соединений - кандидатов в модуляторы процессов репарации ДНК. Б - Наблюдаемые в клеточных экспериментах эффекты действия мепакрина на белки, участвующие в системы репарации двунитевых разрывов ДНК. Зеленым цветом обозначены белки, уровень которых увеличивался при инкубации клеток с мепакрином, а красным - снижался.

Для поиска новых мишеней мепакрина был проведён генетический скрининг с использованием малых интерферирующих РНК (siRNA), нацеленных на 582 гена, участвующих в ответе клетки на повреждения ДНК. В ходе экспериментального скрининга оценивались изменения количества фокусов γ H2AX и 53BP1, а также общее количество клеток после обработки соответствующими siRNA и мепакрином. Такой подход позволил выявить гены, которые усиливают или ослабляют эффект мепакрина (Рисунок 6, А). Гены, нокдаун которых приводил к ослаблению эффектов мепакрина были рассмотрены как потенциальные мишени мепакрина. В результате анализа была идентифицирована новая мишень - белок NDRG1, который является стресс-ответным белком, формирующим комплекс с VCP (Рисунок 6, Б). Было показано, что мепакрин нарушает взаимодействие NDRG1 с белком VCP, что приводит к нарушению образования комплекса NDRG1-VCP (Рисунок 6, В). На основе полученных данных была предложена модель, согласно которой нарушение образования комплекса NDRG1-VCP под действием мепакрина приводит к образованию комплекса VCP-ATXN3. ATXN3 в комплексе с VCP участвует в протеасомной деградации RNF8, влияя на уровень убиквитин-лигаз и эффективность репарации ДНК, таким образом объясняя наблюдаемые нами ранее эффекты на фокусах репарации ДНК (Рисунок 6, Г).

Идентифицированная мишень мепакрина - NDRG1 была предложена как перспективная мишень для разработки новых противоопухолевых препаратов.

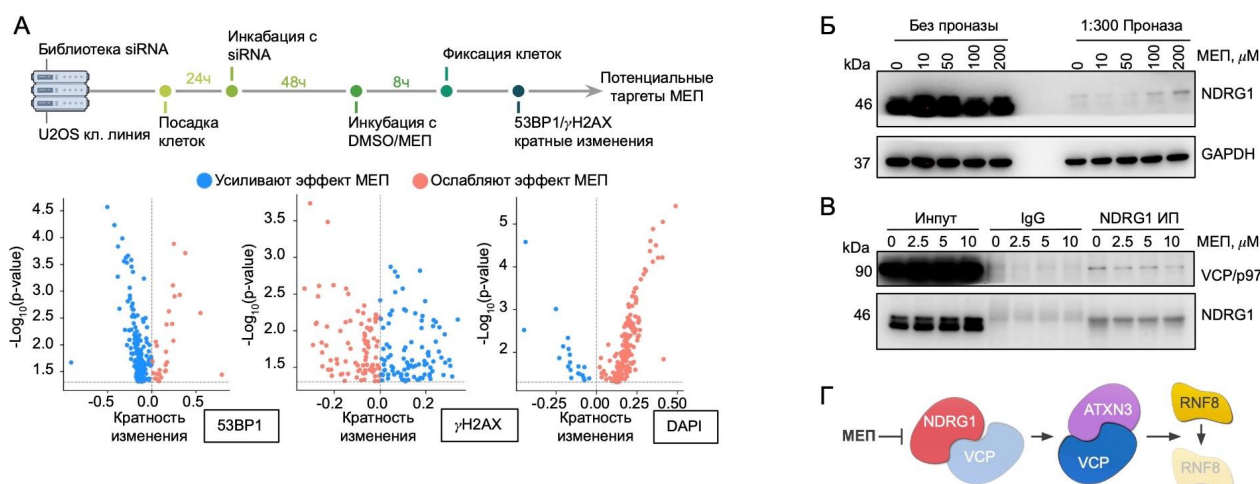


Рисунок 6. А - Схема эксперимента по генетическому скринингу с использованием малых интерферирующих молекул РНК (siRNA) для выявления мишеней мепакрина и вулканические графики, демонстрирующие гены, усиливающие или ослабляющие эффект мепакрина по изменению количества фокусов γ H2AX, 53BP1 и DAPI-позитивных клеток. Б - Анализ стабильности белка NDRG1 методом DARTS в клетках, обработанных мепакрином. В - Иммунопреципитация NDRG1 и последующее выявление его взаимодействия с белком VCP/p97, которое снижается после обработки клеток мепакрином. Г - Предлагаемый механизм деградации RNF8, опосредованный мепакрином через воздействие на NDRG1.

Анализ выживаемости пациентов с различными типами опухолей, рассчитанный на данных из открытого репозитория TCGA, на основе уровня экспрессии гена *NDRG1* показал, что высокий уровень экспрессии гена *NDRG1* ассоциирован с менее благоприятным прогнозом выживаемости. Дополнительная стратификация пациентов с высокой экспрессией *NDRG1* по статусу изменения числа копий генов выявила, что потеря функции таких генов, как *MLH1* или *PARP3*, ассоциирована с улучшением выживаемости (Рисунок 7, А). Это наблюдение может указывать на то, что опухолевые клетки с высокой экспрессией *NDRG1* становятся менее жизнеспособными при одновременной инактивации таких генов, как *MLH1* или *PARP3*. Таким образом, если у пациента опухоль уже несёт мутацию в *MLH1* или *PARP3*, фармакологическое ингибирование NDRG1 (например, мепакрином) может привести к избирательной гибели опухолевых клеток. Такой эффект соответствует принципу синтетической летальности, когда опухолевая клетка может выживать при нарушении функций только одного из генов, но гибнет при одновременном нарушении функций в обоих генах. Для проверки этих гипотез был проведен экспериментальный высокопроизводительный скрининг 129 различных линий опухолевых клеток,

представляющих 28 типов опухолей. В рамках этого анализа в качестве показателя чувствительности использовалось значение IC50 - концентрация мепакрина в наномолях, при которой достигается 50% элиминация клеток. Показано, что клеточные линии с мутациями в идентифицированных синтетически летальных генах, таких как *MLH1* и *PARP3*, характеризуются повышенной чувствительностью к мепакрину, что проявляется в более низких значениях IC50 по сравнению с линиями без таких мутаций. Наиболее выраженная чувствительность отмечена у клеточных линий колоректального рака. Дополнительно, для экспериментальной проверки синтетической летальности, были выбраны клеточные линии колоректального рака с мутациями в генах *MLH1* (клеточная линия - HCT116) и *PARP3* (клеточная линия - DLD1), в которых был проведён нокдаун гена *NDRG1*. В обоих случаях наблюдалось статистически достоверное снижение пролиферации клеток после ингибирования *NDRG1*, что подтверждает возможность реализации синтетической летальности при одновременном нарушении функций *NDRG1* и *MLH1* или *PARP3* (Рисунок 7, Б).

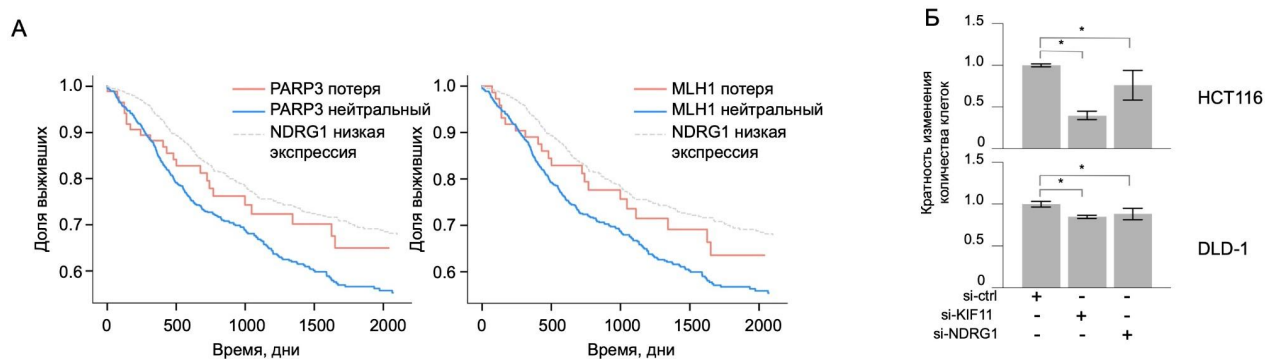


Рисунок 7. А - Анализ выживаемости пациентов с высоким уровнем экспрессии *NDRG1*, поделенных по статусу изменений вариаций числа копий генов *PARP3* и *MLH1*. Статистическая значимость рассчитана с помощью log-rank теста. Б - Анализ выживаемости клеточных линий с мутацией в гене *MLH1* (HCT116) или *PARP3* (DLD-1) после нокдауна *NDRG1* с помощью siRNA по сравнению с положительным (si-KIF11) и отрицательным контролями; * $p < 0,05$, двусторонний критерий Манна-Уитни.

Полученные результаты демонстрируют возможность использования низкомолекулярных модуляторов репарации ДНК в качестве инструментов для поиска новых терапевтических мишеней и биомаркеров чувствительности для разработки персонализированных подходов к лечению онкологических заболеваний. Дальнейшие исследования могут быть направлены на клиническую валидацию полученных результатов, а также на разработку новых терапевтических стратегий, основанных на принципах синтетической летальности для других типов опухолей.

3.3. Идентификация биомаркеров для стратификации пациентов: мультиомиксное исследование заболеваний, связанных с нарушением репарации ДНК

В данном разделе представлен подход к поиску биомаркеров и терапевтических мишеней на основе анализа экспрессионных профилей редких наследственных заболеваний, связанных с нарушениями репарации ДНК и повышенным риском развития онкологических заболеваний (Рисунок 8).

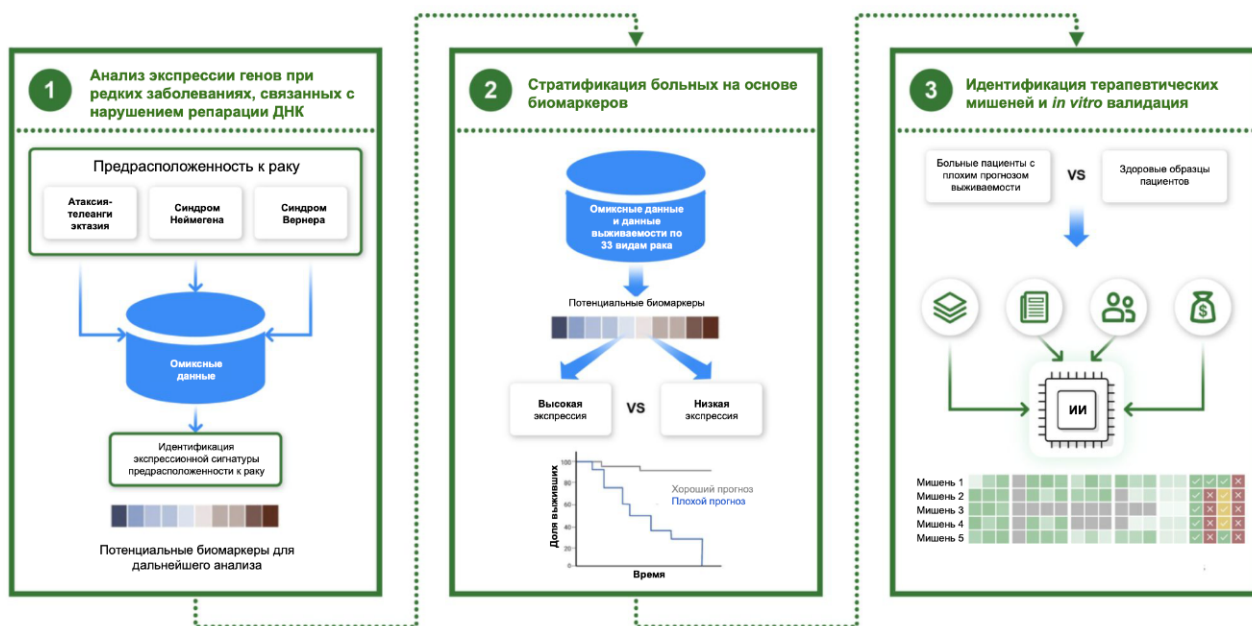


Рисунок 8. Общая схема эксперимента. На первом этапе были проанализированы профили экспрессии генов редких заболеваний, связанных с нарушениями репарации ДНК и повышенным риском развития рака (1). Далее наиболее статистически достоверно измененные гены были исследованы как потенциальные биомаркеры для стратификации пациентов по показателям выживаемости (2). На заключительном этапе для группы пациентов с пониженной выживаемостью был проведен анализ с целью выявления потенциальных терапевтических мишеней (3).

На первом этапе с помощью иерархической кластеризации по фенотипическим признакам, взятых из открытых источников, были выявлены три основных кластера заболеваний, ассоциированных с нарушением репарации ДНК, различающихся по клиническим проявлениям. Для дальнейшего анализа были выбраны три заболевания: атаксия-телеангиэктазия, синдром Неймегена и синдром Вернера. Для выбранных заболеваний характерны высокая частота развития злокачественных новообразований, а также нарушения в механизмах репарации двухцепочечных разрывов ДНК. Сравнительный анализ транскриптомных профилей больных и здоровых образцов, которые были собраны из открытого репозитория GEO, выявил гены, которые статистически

достоверно либо повышены, либо понижены в фибробластах, полученных от пациентов с атаксия-телеангиэктазией, синдромом Неймегена и синдромом Вернера. Данный анализ выявил ген *CEP135* как один из наиболее статистически достоверно возмущенных генов, общий для этих заболеваний (Рисунок 9, А). *CEP135* кодирует белок, участвующий в регуляции клеточного цикла и биогенезе centrosом, а его нарушение связано с аномалиями деления клеток и прогрессией опухолей [15]. Для оценки возможности использования уровня экспрессии *CEP135* в качестве биомаркера, пациенты с различными типами онкологических заболеваний были разделены на группы с высоким и низким уровнем экспрессии этого гена, после чего был проведен анализ общей выживаемости между этими группами. Анализ выживаемости проводился с использованием данных из открытого репозитория TCGA. Данный анализ показал, что уровень экспрессии *CEP135* статистически достоверно коррелирует с выживаемостью пациентов с саркомой, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального прогностического биомаркера (Рисунок 9, Б). Стратификация пациентов с саркомой по молекулярным биомаркерам, таким как *CEP135*, может позволить индивидуализировать лечение и повысить его эффективность у пациентов с неблагоприятным прогнозом.

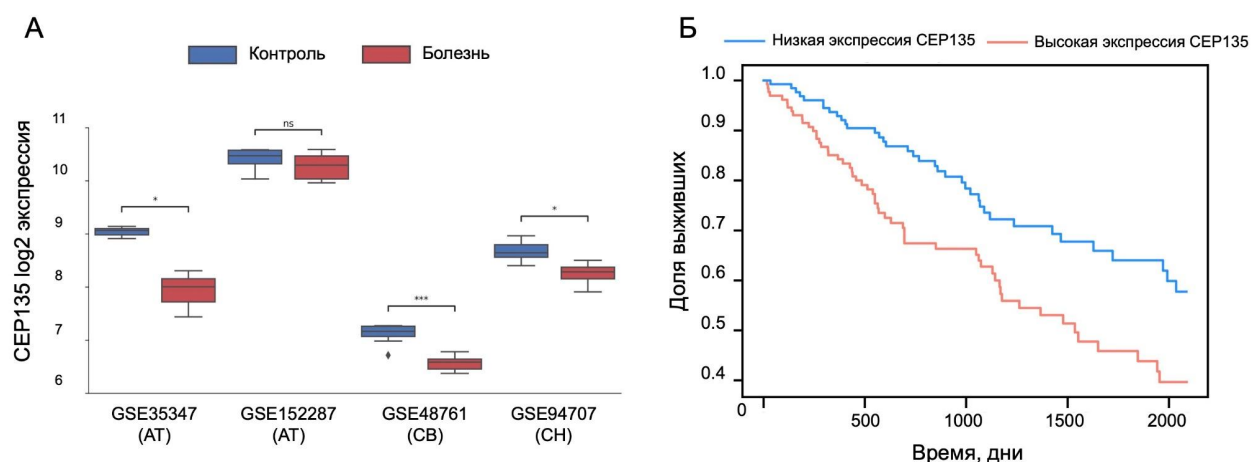


Рисунок 9. А - Изменения экспрессии гена *CEP135* в образцах пациентов по сравнению с контрольными образцами (GSE - идентификатор используемого в анализе датасета из базы данных GEO; AT - Атаксия-Телеангиэктазия, CB - Синдром Вернера, CH - Синдром Неймегена; ns – различия не достоверны, * p -value < 0,05, *** p -value < 0,001, двусторонний критерий Манна–Уитни). Б - Кривые выживаемости (Каплана–Майера) для пациентов с саркомой в зависимости от уровня экспрессии гена *CEP135*. Статистическая достоверность рассчитана с помощью log-rank теста.

Поскольку анализ выживаемости показал, что высокий уровень экспрессии *CEP135* может служить биомаркером для стратификации пациентов с саркомой, далее анализ был

сфокусирован на пациентах с саркомой и высоким уровнем *CEP135* с целью поиска новых терапевтических мишеней. Для этого транскриптомные профили больных с саркомой и высоким уровнем экспрессии гена *CEP135* были сопоставлены с профилями здоровых образцов, а затем проведён интегративный биоинформатический анализ с использованием алгоритма ранжирования терапевтических мишеней [16]. Такой подход позволил выявить наиболее перспективные мишени для данной подгруппы пациентов, среди которых киназа PLK1 была предложена как наиболее перспективная терапевтическая мишень для пациентов с саркомой и высоким уровнем экспрессии *CEP135*. PLK1 играет важную роль в контроле деления клеток, а её гиперактивация часто наблюдается в различных злокачественных новообразованиях [17]. Экспериментальная проверка на клетках подтвердила важную роль *PLK1* в выживании опухолевых клеток (Рисунок 10).

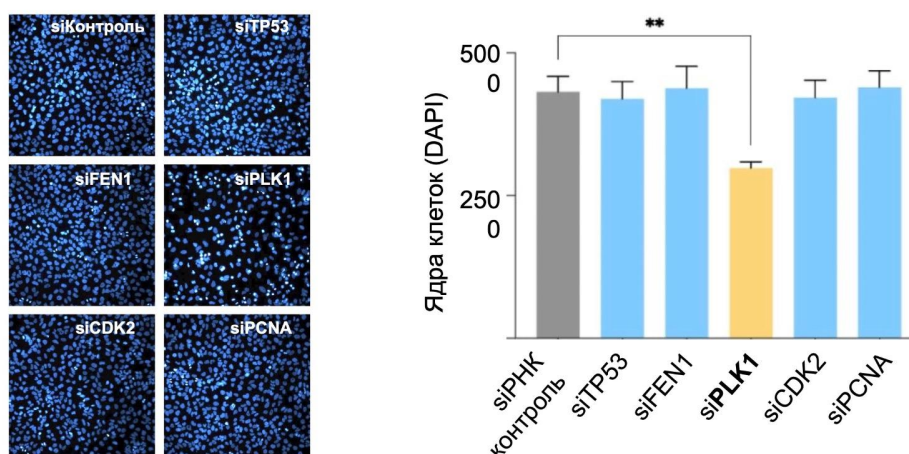


Рисунок 10. Клетки U2OS инкубировали с соответствующими малыми интерферирующими РНК (siRNA) с последующим окрашиванием по DAPI для подсчета ядер. Данные представлены как абсолютное количество DAPI-позитивных клеток для трех независимых повторов (**p-value < 0.01, двусторонний критерий Манна–Уитни).

Полученные результаты демонстрируют, что использование мультиомиксных и биоинформатических подходов позволяет не только выявлять новые биомаркеры и терапевтические мишени, но и разрабатывать персонализированные стратегии лечения для пациентов с саркомой и другими типами опухолей. Такой подход способствует повышению эффективности терапии за счет более точной стратификации пациентов и выбора наиболее подходящих терапевтических стратегий.

Заключение:

В настоящей работе проведен комплексный анализ молекулярных механизмов, влияющих на чувствительность опухолевых клеток к лучевой и таргетной терапии с учетом их молекулярной гетерогенности и особенностей репарации ДНК. На основе

мультиомиксных и биоинформатических подходов выявлены биомаркеры чувствительности (*ATRX*, *EGFR*, *CEP135*) и перспективные терапевтические мишени (*PLK1*, *NDRG1*), а также предложены алгоритмы их идентификации и валидации. Экспериментально подтверждена роль низкомолекулярного соединения мепакрина как модулятора репарации ДНК и показана возможность использования принципа синтетической летальности для повышения эффективности терапии отдельных подтипов опухолей.

Полученные результаты расширяют представления о молекулярных основах чувствительности опухолей к лечению и открывают новые перспективы для разработки персонализированных стратегий терапии. Дальнейшая клиническая валидация выявленных биомаркеров и мишеней позволит повысить эффективность лечения и улучшить прогноз пациентов с онкологическими заболеваниями.

Выводы:

1. Анализ данных из базы TCGA по 32 типам злокачественных новообразований выявил вариабельность результатов выживаемости после радиотерапии в зависимости от типа опухоли и её молекулярных характеристик.
2. Предложенный подход для поиска биомаркеров радиочувствительности, основанный на сравнении транскриптомных и генетических профилей, позволил идентифицировать индивидуальные биомаркеры радиочувствительности (*ATRX*) и радиорезистентности (*EGFR*), которые могут быть использованы для поиска оптимальных схем радиотерапии глиом.
3. На основе сравнения транскриптомных ответов на ионизирующее излучение и низкомолекулярные соединения разработана методология, позволившая выявить мепакрин как эффективный модулятор репарации ДНК.
4. Экспериментально установлен новый механизм действия мепакрина через *NDRG1*-опосредованное снижение уровней убиквитинлигаз *RNF8* и *RNF168*.
5. Предложенный подход позволил идентифицировать биомаркеры чувствительности (*PARP3* и *MLH1*) опухолевых клеток к ингибированию *NDRG1*. Эффективность биомаркеров была подтверждена экспериментально.
6. В результате анализа данных генной экспрессии по редким заболеваниям, связанным с нарушениями в механизмах репарации ДНК и повышенным риском развития онкологических заболеваний, идентифицирован ген *CEP135* как перспективный биомаркер чувствительности саркомы к существующим ингибиторам киназы *PLK1*.

Публикации автора с соавторами по теме диссертации

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в МГУ имени М.В.Ломоносова по специальности и отрасли наук:

1. **Veviorskiy A.**, Variability in radiotherapy outcomes across cancer types: a comparative study of glioblastoma multiforme and low-grade gliomas / **Veviorskiy A.**, Mkrtchyan G.V., Osipov A.N., Izumchenko E., Ozerov I.V., Aliper A., Zhavoronkov A., Scheibye-Knudsen M. // Aging. - 2025. - V. 17. - № 2. - P. 550-562. EDN: DLDAJA (Импакт-фактор 3.9 (JIF), Q2; 0.9 п.л. / 80 %) (doi:10.18632/aging.206212)
2. Worm C., Defining the progeria phenome / Worm C., Schambye M.E.R., Mkrtchyan G.V., **Veviorskiy A.**, Shneyderman A., Ozerov I.V., Zhavoronkov A., Bakula D., Scheibye-Knudsen M. // Aging. - 2024. - V. 16. - № 3. - P. 2026-2046. EDN: QADULR (Импакт-фактор 3.9 (JIF), Q2; 1.5 п.л. / 40%) (doi:10.18632/aging.205537)
3. Olsen A., Identification of dual-purpose therapeutic targets implicated in aging and glioblastoma multiforme using PandaOmics - an AI-enabled biological target discovery platform / Olsen A., Harpaz Z., Ren Ch., Shneyderman A., **Veviorskiy A.**, Dralkina M., Konnov S., Shcheglova O., Pun F.W., Leung G.Ho.D., Leung H.W., Ozerov I.V., Aliper A., Korzinkin M., Zhavoronkov A. // Aging. - 2023. - V. 15. - № 8. - P. 2863-2876. EDN: EFLHIP (Импакт-фактор 3.9 (JIF), Q2; 1 п.л. / 60%) (doi:10.18632/aging.204678)
4. Mkrtchyan G.V., High-confidence cancer patient stratification through multiomics investigation of DNA repair disorders / Mkrtchyan G.V., **Veviorskiy A.**, Izumchenko E., Shneyderman A., Pun F.W., Ozerov I.V., Aliper A., Zhavoronkov A., Scheibye-Knudsen M. // Cell Death and Disease. - 2022. - V. 13. - № 11. - P. 1-9. EDN: WOHOHF (Импакт-фактор 8.1 (JIF), Q1; 0.6 п.л. / 80%) (doi:10.1038/s41419-022-05437-w)

Прочие публикации:

5. Ren F., A small-molecule TNIK inhibitor targets fibrosis in preclinical and clinical models / Ren F., Aliper A., Chen J., Zhao H., Rao S., Kuppe Ch., Ozerov I.V., Zhang M., Witte K., Kruse Ch., Aladinskiy V., Ivanenkov Ya., Polykovskiy D., Fu Ya., Babin E., Qiao Ju., Liang X., Mou Zh., Wang H., Pun F.W., Ayuso P.T., **Veviorskiy A.**, Song D., Liu S., Zhang B., Naumov V., Ding X., Kukharensko A., Izumchenko E., Zhavoronkov A. // Nature Biotechnology. - 2025. - V. 43. - № 1. - P. 63-75. EDN: XAGMQW (Импакт-фактор 33.1 (JIF), Q1, 0.9 п.л. / 20%) (doi:10.1038/s41587-024-02143-0)
6. Sidorenko D., Precious2GPT: the combination of multiomics pretrained transformer and conditional diffusion for artificial multi-omics multi-species multi-tissue sample generation / Sidorenko D., Pushkov S., Sakip A., Leung G.Ho.D., Lok S.W.Ya., Urban A., Zagirova D.,

Veviorskiy A., Tihonova N., Kalashnikov A., Kozlova E., Naumov V., Pun F.W., Aliper A., Ren F., Zhavoronkov A. // NPJ Aging. - 2024. - V. 10. - № 1. - Article number 37. EDN: SLSUPS (Импакт-фактор 5.4 (JIF), Q1, 1 п.л. / 15%) (doi:10.1038/s41514-024-00163-3)

7. Aliper A.M., Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors / Aliper A.M., Bozdaganyan M.E., Sarkisova V.A., **Veviorskiy A.P.**, Ozerov I.V., Orekhov P.S., Korzinkin M.B., Moskalev A., Zhavoronkov A., Osipov A.N. // Aging. - 2020. - V. 12. - № 15. - P. 15741-15755. EDN: RQIILJ (Импакт-фактор 3.9 (JIF), Q2, 1 п.л. / 15%) (doi:10.18632/aging.103815)

8. Pustovalova M., cd44+ and cd133+ non-small cell lung cancer cells exhibit DNA damage response pathways and dormant polyploid giant cancer cell enrichment relating to their p53 status / Pustovalova M., Blokhina T., Alhaddad L., Chigasova A., Chuprov-Netochin R., **Veviorskiy A.**, Filkov G., Osipov A.N., Leonov S. // International Journal of Molecular Sciences. - 2022. - V. 23. - № 9. - Article number 4922. EDN: UTIMOJ (Импакт-фактор 4.9 (JIF), Q2, 1.9 п.л. / 10%) (doi:10.3390/ijms23094922)

Список литературы:

1. Delaney G., Jacob S., Featherstone C., Barton M. The role of radiotherapy in cancer treatment: Estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines // Cancer. 2005. Vol. 104, № 6. P. 1129–1137.

2. Palata O., Hradilova Podzimkova N., Nedvedova E., Umprecht A., Sadilkova L., Palova Jelinkova L., et al. Radiotherapy in combination with cytokine treatment // Front. Oncol. 2019. Vol. 9. P. 367.

3. Citrin D.E. Recent developments in radiotherapy // N. Engl. J. Med. 2017. Vol. 377, № 11. P. 1065–1075.

4. Wu Y., Song Y., Wang R., Wang T. Molecular mechanisms of tumor resistance to radiotherapy // Mol. Cancer. 2023. Vol. 22, № 1. P. 96.

5. Jeggo P.A., Pearl L.H., Carr A.M. DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective // Nat. Rev. Cancer. 2016. Vol. 16, № 1. P. 35–42.

6. O’Neil N.J., Bailey M.L., Hieter P. Synthetic lethality and cancer // Nat. Rev. Genet. 2017. Vol. 18, № 10. P. 613–623.

7. Olivier M., Asmis R., Hawkins G.A., Howard T.D., Cox L.A. The need for multi-omics biomarker signatures in precision medicine // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20, № 19. P. 4781.

8. Zhong L., Li Y., Xiong L., Wang W., Wu M., Yuan T., et al. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives // Signal Transduct. Target. Ther. 2021. Vol. 6, № 1. P. 201.

9. Baumann M., Krause M., Overgaard J., Debus J., Bentzen S.M., Daartz J., et al. Radiation oncology in the era of precision medicine // *Nat. Rev. Cancer*. 2016. Vol. 16, № 4. P. 234–249.
10. Hasin Y., Seldin M., Lusis A. Multi-omics approaches to disease // *Genome Biol*. 2017. Vol. 18, № 1. P. 83.
11. Carruthers R., Ahmed S.U., Strathdee K., Gomez-Roman N., Amoah-Buahin E., Watts C., et al. Abrogation of radioresistance in glioblastoma stem-like cells by inhibition of ATM kinase // *Mol. Oncol*. 2015. Vol. 9, № 1. P. 192–203.
12. Weichselbaum R.R., Liang H., Deng L., Fu Y.-X. Radiotherapy and immunotherapy: a beneficial liaison? // *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2017. Vol. 14, № 6. P. 365–379.
13. Zhao Y., Chen Y., Liu R., Liu M., You N., Zhao K., Zhang J., Xu B. Knockdown of ATRX enhances radiosensitivity in glioblastoma // *Chin. Neurosurg. J*. 2024. Vol. 10, № 1. P. 19.
14. Chakravarti A., Chakladar A., Delaney M.A., Latham D.E., Loeffler J.S. The epidermal growth factor receptor pathway mediates resistance to sequential administration of radiation and chemotherapy in primary human glioblastoma cells in a RAS-dependent manner // *Cancer Res*. 2002. Vol. 62, № 15. P. 4307–4315.
15. Ganapathi Sankaran D., Stemm-Wolf A.J., Pearson C.G. CEP135 isoform dysregulation promotes centrosome amplification in breast cancer cells // *Mol. Biol. Cell*. 2019. Vol. 30, № 10. P. 1230–1244.
16. Kamy P., Ozerov I.V., Pun F.W., Tretina K., Fokina T., Chen S., Naumov V., Long X., Lin S., Korzinkin M., Polykovskiy D., Aliper A., Ren F., Zhavoronkov A. PandaOmics: An AI-Driven Platform for Therapeutic Target and Biomarker Discovery // *J. Chem. Inf. Model*. 2024. Vol. 64, № 10. P. 3961–3969.
17. Schöffski P., Blay J.-Y., De Greve J., Brain E., Machiels J.-P., Soria J.-C., et al. Multicentric parallel phase II trial of the polo-like kinase 1 inhibitor BI 2536 in patients with advanced head and neck cancer, breast cancer, ovarian cancer, soft tissue sarcoma and melanoma. The first protocol of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Network Of Core Institutes (NOCI) // *Eur. J. Cancer*. 2010. Vol. 46, № 12. P. 2206–2215.

Благодарности:

Автор выражает глубокую признательность своим научным руководителям - Осипову Андреяну Николаевичу и Озерову Ивану Витальевичу за ценные советы, постоянную поддержку, внимание к деталям и неоценимую помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы.

Автор выражает благодарность сотрудникам Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН - Каменцевой Ольге Владимировне, Кострову Андрею Николаевичу и Надточенко Виктору Андреевичу за помощь в учебном процессе, консультации по научным вопросам и всестороннюю поддержку.

Автор искренне благодарит учёного секретаря диссертационного совета МГУ.014.6 Северина Александра Валерьевича за помощь в подготовке документов к защите, а также членов диссертационного совета за предоставленную возможность представить результаты диссертационной работы в стенах Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Отдельная благодарность выражается коллегам и соавторам публикаций за плодотворное сотрудничество, обмен опытом и совместную работу над научными проектами.

Автор также сердечно благодарит свою семью и друзей за неизменную поддержку, понимание и веру в успех, которые были важнейшей опорой на протяжении всего периода работы над диссертацией.