

ОТЗЫВ

**официального оппонента Лазаревич Наталии Леонидовны
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Шнайдер Полины Владимировны
на тему: “Исследование вклада межклеточной коммуникации в
возникновение резистентности злокачественных опухолей яичника к
противоопухолевым препаратам”
по специальности 1.5.4. Биохимия**

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Полины Владимировны Шнайдер посвящена сразу двум важным направлениям современной молекулярной онкологии — межклеточной коммуникации и механизмам формирования устойчивости опухолевых клеток к химиотерапии. В научной литературе описаны различные механизмы передачи устойчивости к химиотерапии от резистентных опухолевых клеток к чувствительным или от клеток микроокружения к опухолевым клеткам посредством межклеточной коммуникации. Особенностью работы Полины Владимировны Шнайдер является исследование этих процессов в контексте изменений, происходящих при воздействии химиотерапии, с акцентом на изучение секреции молекул погибающими опухолевыми клетками. Особое внимание уделено влиянию секретомов от погибающих донорных клеток на реципиентные клетки и их роли в формировании химиорезистентности.

Высокая смертность от злокачественных новообразований во многом связана со снижением эффективности химиотерапии на поздних этапах лечения. Чаще всего лечение представляет собой несколько курсов химиотерапии и занимает несколько месяцев. За это время в организме пациента могут происходить события, приводящие к формированию устойчивой к химиотерапии популяции опухолевых клеток. Изучение этих процессов имеет фундаментальное значение для переосмысления современных подходов к противоопухолевой терапии и разработки новых схем, направленных не только на уничтожение

опухолевых клеток, но и на предотвращение передачи эффекторных молекул от погибающих клеток к реципиентным.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, и научных выводов, сформулированных в диссертации

Работа четко спланирована и выполнена на высоком методологическом уровне. Выводы автора логично вытекают из проведенных экспериментов. Полина Владимировна Шнайдер убедительно показала, что секретомы способны стимулировать формирование устойчивости опухолевых клеток за счёт активации механизмов репарации ДНК, а также подтвердила специфичность данного механизма относительно опухолевых, но не нормальных клеток.

Ключевые выводы работы подтверждены данными современных высокоразрешающих методов, включая масс-спектрометрию, секвенирование РНК и проточную цитометрию. Логика исследования выстроена последовательно: сначала автор анализирует состав секретомов, затем показывает их влияние на клетки реципиенты, и наконец, проводит функциональные эксперименты, подтверждающие активацию систем репарации ДНК и удлинение S-фазы клеточного цикла.

Научная новизна и значимость исследования

Новизна работы проявляется на нескольких уровнях. Во-первых, автором разработан детальный протокол получения секретомов, имитирующий условия химиотерапевтического стресса, что позволяет более точно воспроизводить процессы, происходящие в опухолевой ткани. Во-вторых, автор впервые показал, что секретомы от погибающих клеток изменяют активность внутриклеточных сигнальных каскадов реципиентных клеток, способствуя формированию устойчивости не только к цисплатину, но и к другим ДНК-повреждающим агентам. Это наблюдение имеет особую ценность в контексте разработки новых схем лечения, задействующих два и более химиотерапевтических препаратов.

Степень достоверности результатов

Достоверность результатов, представленных в диссертации, не вызывает сомнений. Автор использовал широкий спектр высокопроизводительных современных методов, включая как протеомный масс-спектрометрический анализ, так и секвенирование РНК. Все эксперименты были проведены в нескольких повторностях, что подтверждает воспроизводимость данных. Особо следует отметить комплексный подход к анализу: автор применяет как высокоразрешающие молекулярные методы, так и функциональные клеточные тесты, что позволяет рассмотреть проблему с разных сторон. Приведённые результаты опубликованы в трех статьях, размещенных в рецензируемых научных журналах первого квартиля (Q1), а также представлены на 13 конференциях, включая международные.

Оценка структуры, содержания и оформления диссертации

Диссертация представляет собой хорошо структурированную научную работу, написанную ясным и академически точным языком. Каждая из глав логически взаимосвязана и последовательно раскрывает поставленные задачи.

Работа состоит из списка сокращений, оглавления, введения, обзора литературы, описания материалов и методов, раздела с результатами и их обсуждением, выводами и списка цитированной литературы. Диссертационная работа изложена на 115 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, который включает 290 источников. Диссертация содержит 44 рисунка и 5 таблиц.

Во введении четко сформулированы цели и задачи исследования, его актуальность, научная новизна и практическая значимость.

Литературный обзор отражает основные ключевые аспекты, необходимые для понимания механизмов приобретенной химиорезистентности, межклеточной коммуникации в опухоли, а также обоснование выбора аденокарциномы яичника в качестве модельного объекта исследования.

В разделе “Результаты и обсуждение” автор описывает полученные результаты и интерпретирует их. Автором было показано, что клетки, полученные из асцитных жидкостей от пациенток после химиотерапии, обладают повышенной устойчивостью к цисплатину, а асцитные жидкости пациенток после химиотерапии способствуют формированию устойчивости у реципиентных опухолевых клеток в условиях *in vitro*. Далее автором был проведен тщательный подбор условий генерации секретомов от погибающих опухолевых клеток *in vitro*. В ходе работы было впервые показано, что для формирования устойчивости к химиотерапии в реципиентных клетках, донорные клетки должны погибать апоптозом, при этом критически важной является активация в донорных клетках везикулярного транспорта и ядерно-цитоплазматического экспорта. Также автором было продемонстрировано, что только опухолевые клетки способны приобретать химиорезистентность в ходе межклеточной коммуникации, опосредованной химиотерапией. Основным механизмом формирования устойчивости к ДНК-повреждающим агентом автор предполагает предварительную активацию аппарата репарации ДНК в реципиентных клетках, что позволяет реципиентным клеткам более оперативно эффективно отвечать на повреждения ДНК.

Выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы, базируются на полученных результатах и полностью соответствуют поставленным задачам.

Данные, представленные в диссертации, вносят существенный вклад в понимание возможных механизмов развития резистентности клеток рака яичника к противоопухолевым препаратам, раскрывают важную роль межклеточной коммуникации, в том числе между субпопуляциями опухолевых клеток, в этом процессе, и, несомненно, открывают новые перспективы для разработки новых противоопухолевых препаратов и схем лечения.

Таким образом, результаты, полученные П.В. Шнайдер, представляют значительный интерес как для фундаментальной молекулярной и клеточной биологии и молекулярной онкологии, так и для практической биомедицины,

направленной на разработку новых подходов для прогнозирования и терапии злокачественных опухолей яичника.

Замечания к диссертационной работе

Принципиальных замечаний по сути представленной диссертационной работы и полученным в ней результатам у меня нет. Однако я бы хотела высказать ряд замечаний, возникших при прочтении работы.

1. На первом этапе исследования автором были использованы первичные культуры, полученные из клеток, осажденных из асцитной жидкости онкологических пациентов. Как известно из литературы и обсуждается автором в тексте работы, в асцитной жидкости пациентов содержатся не только опухолевые, но и неопухолевые клетки – фибробласты, макрофаги, В и Т лимфоциты и др. К сожалению, в тексте диссертации не содержится сведений о том, проводилась ли какая-либо селекция или характеристика клеточных культур по маркерам разных популяций клеток, которая позволила бы ответить на вопрос – каков клеточный состав исследуемых популяций клеток из асцитов и первичных культур, какова в них доля опухолевых клеток. Без таких данных представляется недостаточно корректным квалифицировать такие культуры как «опухолевые клетки рака яичников» или «первичные культуры опухолевых клеток» (стр. 56 и далее).

2. В описании экспериментов по обработке реципиентных первичных культур клеток с асцитными жидкостями (глава 2 раздела «Результаты и обсуждение») неясно, проводилось ли нормирование асцитных жидкостей, полученных до и после химиотерапии, по концентрации везикул или каким-либо другим способом.

3. Основной клеточной линией для исследований *in vitro* стала культура SKOV3. К сожалению, в диссертации отсутствует развернутая характеристика культуры – гистологический подтип опухоли яичника, из которой она получена, ключевые генетические нарушения, степень злокачественности, или критерии, по которой именно она выбрана в качестве основного объекта исследования. Такая информация позволила бы полнее оценить применимость результатов,

полученных на модельной системе, для клинических образцов опухолей со схожими характеристиками.

4. При анализе транскриптомных и протеомных профилей клеток основной упор сделан на функциональный анализ активированных при химиотерапии сигнальных каскадов. Не совсем понятно, почему основной упор сделан лишь на гиперэкспрессированные гены. Также было бы интересно проследить, выявляются ли общие дифференциально экспрессированные гены при анализе различных клинических случаев, есть ли пересечения дифференциально экспрессируемых генов и их продуктов для одних и тех же образцов на транскриптомном и протеомном уровнях, выявляются ли общие гены или их продукты при анализе эффектов «клинических» и «модельных» секретомов.

Перечисленные замечания носят прежде уточняющий характер и не снижают общей значимости результатов и выводов этой очень интересной и актуальной диссертационной работы, выполненной на высоком современном методическом уровне. В целом работа производит очень благоприятное впечатление благодаря продуманности, новизне, комплексному подходу к анализу клинических образцов и клеточных культур и значительному объему полученных экспериментальных данных. Автореферат и представленные публикации дают полное представление о диссертационной работе.

Таким образом, можно заключить, что диссертационная работа Шнайдер Полины Владимировны “Исследование вклада межклеточной коммуникации в возникновение резистентности злокачественных опухолей яичника к противоопухолевым препаратам” отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.4. Биохимия (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 требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени

кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Шнайдер Полина Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,
заведующий отделом иммунохимии НИИ канцерогенеза
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Лазаревич Наталия Леонидовна

12.12.2024

Контактные данные:

тел.: 8(499)323-56-55, e-mail: lazarevich@ronc.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 03.01.03 - Молекулярная биология (биол. науки)

Адрес места работы:

115522, г. Москва, Каширское шоссе, д.24

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ канцерогенеза

Подпись Лазаревич Н.Л. заверяю

Ученый секретарь

НИИ канцерогенеза

ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»

Минздрава России, к.б.н.

Дата

М.В. Гудкова