

**ОТЗЫВ официального оппонента
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**

Диссертационная работа Шнайдер Полины Владимировны представляет собой комплексное исследование, посвященное характеристике влияния секрета погибающих под действием химиотерапии опухолевых клеток на устойчивость клеток рака яичника к терапии.

Актуальность работы Полины Владимировны не вызывает сомнений. Возникновение резистентности новообразований к химиотерапевтическим препаратам – одна из ключевых проблем современной медицины, фармацевтики, биохимии и молекулярной биологии. В целом, используя образцы больных и разработанную *in vitro* систему, автором было показано, что секретом клеток рака яичника, находившихся под воздействием ДНК-повреждающего агента, стимулирует резистентность опухолевых клеток к химиотерапии препаратами, повреждающими ДНК. В этой связи, диссертационная работа имеет большое прикладное значение для оптимизации и совершенствования существующих протоколов и методов лечения больных со злокачественными новообразованиями.

Необходимо отметить фундаментальное значение данной работы. Так, автор показывает принципиальную роль межклеточной коммуникации внеклеточными везикулами в развитии устойчивости клеток к стрессовым воздействиям. Особенно интересным выглядят различия действия секрета опухолевых клеток на опухолевые и условно нормальные клетки. Полученные автором данные указывают на то, что резистентность к химиотерапии стимулируется именно в опухолевых клетках. Кроме того, важно выделить показанное автором накопление определенных белков, в частности белков сплайсосомы во внеклеточных везикулах и выявленный

Полиной Владимировной молекулярный механизм действия секретома реализующийся, через стимуляцию клеточных механизмов репарации ДНК.

Диссертационная работа Полины Владимировны производит очень хорошее впечатление. Работа четко и логично построена, эксперименты хорошо дополняют друг друга и направлены на выяснение ключевых механизмов, объясняющих наблюдаемые феномены. Следует отметить комплексный подход и высокий профессиональный уровень реализации работы. В частности, в работе был использован широкий набор современных биохимических, молекулярно-биологических, биофизических и биоинформатических методов и подходов. Эксперименты были проведены со всеми необходимыми контролями и достаточным количеством повторов. Выводы достоверны и основаны на результатах исследования. В целом, цели и задачи работы достигнуты. Автореферат диссертации в полной мере отражает суть проведенного исследования.

Работа изложена на 115 страницах, содержит 44 рисунка, 5 таблиц и ссылки на 290 литературных источников, построена по стандартному плану и содержит основные разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и их обсуждение, Заключение, Выводы, а также список литературы. По результатам исследований автором были опубликованы 3 статьи в высокорейтинговых научных журналах, таких как Nature communications, Frontiers in cell and developmental biology, International journal of molecular sciences. Результаты работы были представлены на 13 национальных и международных научных конференциях.

Диссертационная работа обладает очевидными достоинствами, в то же время есть и ряд недочетов

- 1) В разделе основные положения, выносимые на защиту, на мой взгляд, целесообразно было бы указать конкретно о каких «опухолевых клетках» идет речь.
- 2) Работа логично построена, однако в работе указано, что пациенты получали в качестве терапии карбоплатин и таксаны, а не

цисплатин. Не ясно чем был обусловлен выбор данного препарата для проведения *in vitro* исследований?

- 3) Важно учитывать, что культура опухолевых клеток, полученных из асцитной жидкости, содержит и значительное количество неопухолевых клеток. Из текста диссертации не совсем ясно, разделяли ли каким-либо образом эти популяции.
- 4) Не совсем понятно, руководствуясь какими критериями, выбирали пациентов для проведения тех или иных экспериментов (Таблица 3). Кроме того, на основе каких экспериментов подбирали действующие концентрации ингибиторов (доксорубицин, этопозид, паклитаксел, стауроспорин).
- 5) В первой части работы автор уделяет большое внимание генам, уровень экспрессии которых в клетках из асцитных жидкостей больных повышалась после взаимодействия с секретами, однако были ли проанализированы гены, уровень экспрессии которых снижался?
- 6) Непонятны отдельные детали протокола очистки внеклеточных везикул с помощью ультрацентрифугирования, подразумевающий разведение образца в самом плотном слое градиента сахарозы, последующее ультрацентрифугирование и сбор фракции из области с неизвестной плотностью.
- 7) При получении секретомов из клеток SCOV было бы целесообразно проводить замену среды и отмывку клеток фосфатным буфером не только в клетках, обработанных цисплатином, но и в контрольных клетках.

Существует и ряд вопросов к оформлению работы:

- 1) В разделе Материалы и Методы не всегда указываются производители использованных реактивов.
- 2) На рисунке 22 результаты анализа протеома и транскриптома было бы целесообразно поменять местами.

- 3) Не совсем понятно, что автор подразумевает под фокусами и как проводился их подсчет.
- 4) Наконец, в тексте изредка встречаются ошибки и опечатки.

Работа вызывает явный интерес и имеет очевидный потенциал для дальнейшего продолжения и развития. В частности, было бы крайне любопытно установить, какой тип внеклеточных везикул вызывает наблюдаемые изменения? Было бы также желательно непосредственно продемонстрировать взаимодействие внеклеточных везикул и выявить перенос их содержимого в клетки-реципиенты. Кроме того, интересно установить, не связано ли отсутствие эффекта секрета опухолевых клеток на условно нормальные клетки с неэффективным слиянием внеклеточных везикул или деградацией их содержимого в этих клетках?

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 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,

ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук»

Морозов Алексей Владимирович

16.12.2024

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

1.5.3. Молекулярная биология

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32,

ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН», лаборатория регуляции внутриклеточного протеолиза

Тел.: 8 (499) 135-98-01; e-mail:

Подпись сотрудника

ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН А.В. Морозова удостоверяю:

Ученый секретарь к.ф.-м.н.

Е.В. Коновалова

16.12.2024