



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
(ИМБ РАН)

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: isinfo@imb.ru
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

Исх. от 24.02.2025 № 12312-13/95



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИМБ РАН

д.б.н., профессор, академик РАН

С.Г. Георгиева

февраль 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы Васильевой Марии Вадимовны на тему «Влияние изменений Notch-зависимых сигнальных путей на свойства клеток солидных опухолей и прогрессию новообразований», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Васильевой Марии Вадимовны посвящена актуальной теме, изучению роли сигнального пути Notch в формировании фенотипа опухолевых стволовых клеток (ОСК) и опухоль-стимулирующего фенотипа мезенхимальных клеток микроокружения опухоли.

Клеточными моделями для проведения основной части исследования выбраны карциномы легкого и толстой кишки человека. По данным Национального института онкологии США заболеваемость колоректальным раком и раком легкого и бронхов в мире составляет 7,6 % и 11,7% соответственно от всех диагностированных случаев онкологических заболеваний с летальным исходом 8,7% и 20,4% в 2024 году, 5-летняя относительная выживаемость (2014–2020 гг.) составила 65% и 26,7%. В последние десятилетия отмечается тенденция к неуклонному росту заболеваемости данными типами злокачественных новообразований (ЗНО) в различных возрастных группах, особенно в молодом возрасте. Рак легкого и колоректальный рак не

обладают ярко выраженной симптоматикой, большинство выявленных случаев приходится на поздние стадии течения заболевания (Grade III и IV), что значительно затрудняет их терапию.

Гиперактивность некоторых сигнальных путей может быть вовлечена в прогрессию ЗНО. Согласно множеству исследований, гиперактивность сигнального пути Notch связана с неблагоприятным прогнозом при большинстве типов онкологических заболеваний. Соматические активирующие мутации и увеличение числа копий гена, кодирующего рецептор сигнального пути Notch – *NOTCH1*, часто детектируются в образцах опухолевой ткани рака легкого и колоректального рака. Кроме этого, наблюдается повышение количества мРНК *NOTCH1* в образцах первичных, вторичных опухолевых очагов и рецидивах по сравнению с нормальной солидной тканью. Одними из ключевых механизмов опухолевой прогрессии являются формирование и поддержание в опухолевом очаге популяции ОСК и взаимодействие опухолевых клеток с различными типами клеток микроокружения. Данные механизмы сложны, многокомпонентны и зависят от множества факторов, таких как гистогенетическое происхождение опухоли, локализация, стадия и пр., поэтому их изучение представляет собой сложный и трудоемкий процесс. Выявление основных принципов и общности таких механизмов является приоритетной задачей данной тематики научных исследований.

На сегодняшний день вовлеченность гиперактивности сигнального пути Notch в прогрессию доказана для множества типов ЗНО, однако глобальное ингибирование Notch (блокирование γ -секретазы) в доклинических исследованиях не принесло ожидаемых результатов, поскольку, во-первых, активность сигнального пути Notch необходима для функционирования нормальных стволовых клеток, в частности крипт кишечника, а во-вторых, γ -секретаза имеет множество других субстратов, помимо рецепторов NOTCH, взаимодействие с которыми важно для нормальных физиологических процессов организма.

Таким образом, Notch-зависимые молекулярные механизмы онкогенеза на сегодняшний день требуют дальнейшего изучения для успешной разработки таргетных препаратов, нацеленных на нормализацию его активности.

Связь темы диссертации с планом основных научных работ

Диссертационная работа Васильевой Марии Вадимовны выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России. Тема диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия утверждена на заседании Ученого совета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 4 от 19 марта 2019 года).

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Васильевой М.В. впервые использован комплексный подход к изучению активности сигнального пути Notch в опухолевой прогрессии, обусловленной свойствами самих опухолевых клеток и их взаимодействием с клетками микроокружения мезенхимального происхождения.

В первую очередь Васильевой М.В. было изучено влияние подавления экспрессии *NOTCH1* на фенотип клеток рака легкого и толстой кишки человека, в результате чего доказана вовлеченность рецептора NOTCH1 в формирование и поддержание пула ОСК данных типов ЗНО. Обоснованность и высокая достоверность результата достигнута благодаря разработанному в рамках исследования комплексному подходу к оценке злокачественности фенотипа опухолевых клеток, заключающемуся в сочетании независимых как классических, так и современных методов *in vitro* и *in vivo* по детекции популяции ОСК в культуре.

В представленном исследовании Васильевой М.В. также был выявлен еще один потенциальный механизм опухолевой прогрессии, обусловленный формированием фенотипа опухоль-ассоциированных фибробластов мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), который может быть запущен через активацию в них сигнального пути Notch под воздействием опухолевых клеток. Для детального изучения данного механизма и его компонентов была разработана клеточная модель для воссоздания механизмов взаимодействия опухоли со стромальным микроокружением *in vitro* и *in vivo*. Описанный механизм открыт на клеточной модели рака толстой кишки, а его универсальность доказана на моделях немелкоклеточного рака легкого, фибросаркомы и гепатокарциномы.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Содержание диссертационной работы Васильевой М.В. полностью отвечает поставленным целям и задачам. Автором получен обширный первичный материал, отличающийся репрезентативностью, достаточным количеством и качеством. Полученные данные проанализированы и статистически обработаны, на основании чего грамотно сформулированы научные положения работы. Работа выполнена на современном уровне с использованием клеточного материала различного гистогенетического происхождения, широкого спектра методов и оборудования для решения поставленных задач. Автором проведен обширный анализ научной литературы по исследуемой тематике, сопоставлены собственные полученные данные с данными мировой литературы, на основании чего логично изложены обсуждение и заключение. Выводы аргументированы, даны практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Совокупность представленного материала диссертационного исследования не оставляет сомнений в его обоснованности и достоверности.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты исследования Васильевой М.В. имеют важное значение для понимания и раскрытия механизмов опухолевой прогрессии. Полученные данные о важности экспрессии *NOTCH1* для прогрессии рака легкого и толстой кишки могут быть учтены при разработке новых терапевтических стратегий, нацеленных на элиминацию опухолевых клеток с фенотипом ОСК. Выявленные гены, ассоциированные с поддержанием пула и фенотипа ОСК, меняют взгляд на разрабатываемые ранее ингибиторы сигнального пути Notch и смещают фокус разработок в сторону нацеливания именно на Notch-зависимые гены. В рамках данной части работы автор исследования также представил комплексный подход к оценке пула и фенотипа ОСК в культуре опухолевых клеток, сочетающий различные методы *in vitro* и *in vivo*. Для открытия неизвестного ранее механизма опухолевой прогрессии, осуществляемого посредством взаимодействия опухолевых и мезенхимальных клеток через сигнальный путь Notch, была разработана клеточная модель, позволяющая физиологично воссоздать данное взаимодействие *in vitro* и *in vivo*. Полученные результаты вносят вклад в формирование базиса для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований в области молекулярной онкологии.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационной работы Васильевой М.В. представляют интерес для специалистов в области фундаментальной и клинической онкологии. Разработанный комплексный подход к оценке пула и фенотипа ОСК в культуре опухолевых клеток может быть использован при получении биологических характеристик опухолевых клеток различной гистогенетической принадлежности и позволяет выявлять новые потенциальные мишени для разработки таргетных терапий. Проведенный в рамках изучения влияния подавления экспрессии *NOTCH1* на фенотип клеток рака легкого и толстой кишки человека анализ экспрессии Notch-зависимых генов дает основание полагать, что именно они могут служить потенциальной мишенью при разработке противоопухолевых препаратов. Разработанная клеточная модель для воссоздания взаимодействия опухолевых и мезенхимальных клеток микроокружения позволила выявить и детально изучить неизвестный ранее Notch-зависимый молекулярный механизм дифференцировки МСК под воздействием опухолевых клеток рака толстой кишки человека. Данная клеточная модель имеет широкую применимость в фундаментальной и прикладной науке, поскольку позволяет не только изучать молекулярные механизмы онкогенеза, но и проводить пилотные исследования разработанных тест-систем и противоопухолевых препаратов. Описанные в рамках диссертационной работы подход и клеточная модель внедрены в научно-исследовательскую деятельность ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Личный вклад автора

Васильева М.В. принимала непосредственное участие в выборе темы диссертационной работы, постановке задач, самостоятельно провела анализ литературы, изучила актуальность и степень разработанности темы, лично или при непосредственном участии разработала дизайн экспериментов и выполнила их. Васильева М.В. самостоятельно проанализировала полученные данные грамотными методами, сопоставила с данными мировой литературы и изложила результаты. На основе полученных данных автор самостоятельно подготовила материалы для публикации статей и представления на научных конференциях по теме диссертации, а также оформила диссертационную работу и автореферат.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Васильевой М.В. построена по классической схеме и имеет все необходимые разделы. Материал диссертационного исследования изложен на 107 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов», заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 42 рисунка, 6 таблиц и ссылки на 287 литературных источника.

Во «Введении» в достаточной степени и прозрачно изложены актуальность темы и степень ее разработанности, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, соответствие диссертации паспорту научной специальности, степень достоверности и апробация результатов, публикации по теме диссертации, структура и объем диссертации.

В главе «Обзор литературы» проведен анализ современных литературных данных по теме исследования, отражающий состояние проблемы на сегодняшний день. Глава хорошо структурирована и содержит исторические справки об открытии и первых исследованиях сигнального пути Notch, описание строения канонического сигнального пути, его роли в опухолевой прогрессии и примеры современных терапевтических стратегий, направленных на снижение его активности. Из приведенных данных логически вытекают сформулированные цель и задачи диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны использованные в работе материалы и методы, содержатся необходимые ссылки и каталожные номера производителей. Стоит отметить обширность, но при этом адекватность и целесообразность выбора методов исследования для решения поставленных задач.

Глава «Результаты исследования» изложена логично и хорошо иллюстрирована. Представленный материал для удобства восприятия разбит на два раздела, посвященных значимости экспрессии *NOTCH1* для прогрессии карцином легкого и толстой кишки человека и для взаимодействия опухолевых и мезенхимальных клеток микроокружения.

Глава «Обсуждение результатов» отражает сопоставимость полученных автором данных и состояния современной литературы по теме работы, а также их вклад в развитие науки.

В разделе «Заключение» автор обобщает результаты и подводит итоги диссертационного исследования. На основе полученных результатов четко и логично сформулированы выводы, полностью соответствующие цели и поставленным задачам исследования, а также полностью отражающие основные положения работы.

Таким образом, можно заключить, что автор тщательно подошел к изучению проблемы, продумал и реализовал необходимые эксперименты, оформил результаты исследования в виде публикаций и текста диссертационной работы, сделал выводы, внедрил результаты, дал практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Автореферат соответствует требованиям и отражает основное содержание диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе и вопросов к автору нет.

Апробация диссертации

Материалы диссертационной работы отражены в 14 публикациях. По теме работы опубликовано 3 статьи в международных рецензируемых журналах, рекомендованных высшей аттестационной комиссией при министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук. Результаты работы представлены на 5 российских и международных конференциях (7 тезисов в материалах научных конференций): The EMBO workshop (г. Томск, Россия, 2015), Молекулярная онкология: итоги и перспективы (г. Москва, Россия, 2015), EACR25 (г. Амстердам, Нидерланды, 2018), IV Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (г. Москва, Россия, 2018) и MAP 2020 Virtual Congress (2020).

Апробация диссертации состоялась 9 апреля 2024 года на совместной научной конференции профильных структурных подразделений НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Заключение

Диссертационная работа Васильевой Марии Вадимовны на тему «Влияние изменений Notch-зависимых сигнальных путей на свойства клеток солидных опухолей и прогрессию новообразований» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение важной научной задачи — выявление механизмов опухолевой прогрессии, связанных со свойствами самих опухолевых клеток и их взаимодействием с клетками микроокружения, имеющей существенное значение для развития фундаментальной онкологии. Диссертационная работа соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года № 426, от 11 сентября 2021 г. № 1539, от 26 октября 2023 года № 1786, от 25 января 2024 г. № 62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Васильева Мария Вадимовна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Отзыв обсужден и одобрен на научном семинаре федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук 24 февраля 2025 года (протокол № 1).

Отзыв на диссертационную работу Васильевой М.В. подготовлен главным научным сотрудником лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии ИМБ РАН Митькевичем Владимиром Александровичем.

Главный научный сотрудник лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология



Митькевич Владимир Александрович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

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

+7 (499) 135-23-11, +7 (499) 135-11-60, isinfo@eimb.ru, www.eimb.ru

Я, Митькевич Владимир Александрович, настоящим даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.



Митькевич В.А.

Подпись д.б.н., член-корр. РАН Митькевича В.А. удостоверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН, к.ф.-м.н.

«24» феврале 2025 года



Коновалова Е.В.

