

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, заведующего лабораторией клеточной подвижности отдела электронной микроскопии научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Алиевой Ирины Борисовны на диссертационную работу Васильевой Марии Вадимовны на тему «Влияние изменений Notch-зависимых сигнальных путей на свойства клеток солидных опухолей и прогрессию новообразований», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Васильевой Марии Вадимовны является логическим обобщением цикла ее работ, посвященных крайне актуальной теме, много лет находящейся в центре внимания клеточных биологов – исследованию молекулярных механизмов опухолевой прогрессии и выяснению причин возникновения нарушений, характерных для процесса развития злокачественных опухолей. Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений, она обусловлена тем, что результаты экспериментальных исследований последних лет свидетельствуют о сложном, двунаправленном взаимодействии опухолевых клеток и их микроокружения на всех этапах опухолевой прогрессии, включая инвазию и метастазирование. Крайне важно, что это взаимодействие принципиально и с практической точки зрения, поскольку вносит существенный вклад в развитие резистентности опухоли к химио- и радиотерапии. Таким образом, глубокое изучение молекулярных механизмов взаимодействия опухолевых клеток и их микроокружения имеет не только теоретическую ценность, но и решающее значение для разработки новых высокоэффективных терапевтических стратегий.

Научная новизна

Поскольку взаимодействие опухолевых клеток с микроокружением осуществляется по двум механизмам – юкстакринному и паракринному – и посредством множества различных сигнальных путей, автор сконцентрировался на исследовании сигнального пути Notch – плейотропного сигнального пути, вовлечённого во взаимодействие опухолевых клеток со всеми типами клеточных компонентов и проявляющего как опухоль-промотирующие, так и опухоль-супрессирующие свойства. Несмотря на множество опубликованных другими исследователями работ, автор внесла существенный вклад в современное понимание двойственности такой регуляции, создав базис для фундаментальных и дальнейших прикладных исследований в области молекулярных механизмов канцерогенеза. Для достижения поставленной в

диссертационной работе цели М.В. Васильева впервые использовала оригинальный подход к изучению роли рецептора NOTCH1 сигнального пути Notch, заключающийся в оценке влияния его подавления как на характеристики самих опухолевых клеток, так и на взаимодействие опухолевых и мезенхимальных клеток микроокружения. В результате своих исследований, представленных в диссертационной работе, М.В. Васильева получила данные о важной роли экспрессии *NOTCH1* для поддержания более выраженного злокачественного фенотипа клеток карцином лёгкого и толстой кишки человека. Ею был обнаружен ещё один, ранее не описанный механизм опухолевой прогрессии, обусловленный взаимовлиянием опухолевых и мезенхимальных клеток, реализуемый посредством сигнального пути Notch. Таким образом, оригинальные исследования М.В. Васильевой внесли весомый вклад в понимание фундаментальных основ процессов, обуславливающих опухолевую прогрессию, они являются основой для разработки принципиально новых, высокоэффективных терапевтических стратегий.

В своем исследовании М.В. Васильева использовала широкий набор самых современных методов цитофизиологии, гистологии, клеточной и молекулярной биологии, используя в том числе инструменты, разработанные специально для решения поставленных в диссертации задач – в частности, для решения поставленных задач автором получены стабильные клеточные сублинии A549 и HCT116 с подавленной экспрессией *NOTCH1*. Такой комбинированный подход и аккуратность в интерпретации полученных данных позволили автору провести уникальные исследования и получить абсолютно оригинальные результаты.

Структура и содержание диссертации

Диссертация М.В. Васильевой написана по общепринятому плану и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Список сокращений и условных обозначений приведен в самом конце работы, что представляется не совсем удобным для читателя – логичнее приводить его в начале работы.

Во **введении** кратко охарактеризована актуальность выбранной автором темы и степень ее разработанности к моменту начала диссертационной работы, обозначен предмет исследования, четко сформулированы цель и задачи диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

Глава «**Обзор литературы**» достаточно полно описывает историю открытия сигнального пути Notch, его роль в прогрессии опухолевых клеток и в прогрессии опухолей, обусловленной микроокружением. Автор обобщает литературные данные и представляет обзор современных знаний в данной области, акцентируясь на аналогичных работах, выполненных

другими исследователями. Автор описывает роли сигнального пути Notch в развитии и поддержании гомеостаза организма, патологии и онкологические заболевания, связанные с нарушением его активности, а также терапевтические стратегии, связанные с сигнальным путем Notch. В целом, глава «Обзор литературы» дает полное представление об исследуемой автором проблеме.

В главе «**Материалы и методы**» подробно описан обширный набор биохимических, молекулярно-биологических и иммуногистохимических методик и методов исследования, которые были использованы для решения поставленных задач. Полученные автором данные оценены количественно с использованием морфометрического и статистического анализа. Таким образом, методически работа выполнена на самом современном уровне.

В главе «**Результаты исследований**» подробно и последовательно изложены полученные экспериментальные данные.

Глава «**Обсуждение**» разделена автором на два раздела, в одном из которых обсуждается роль экспрессии *NOTCH1* для прогрессии опухолей (карцином легкого и толстой кишки человека), а во втором – значение экспрессии *NOTCH1* для взаимодействия опухолевых и мезенхимальных клеток микроокружения. Полученный автором для достижения сформулированных в работе цели и задач исследования внушительный экспериментальный материал более, чем достаточен для кандидатской диссертации. Научные положения, а также выводы работы, представленные автором на основании полученных данных, обоснованы и достоверны. Помимо выводов, диссертационная работа содержит практические рекомендации, которые, несомненно, помогут следующим поколениям исследователей, работающим как в области экспериментальной, так и практической онкологии.

Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Следует отметить тщательность, с которой оформлена работа, в ней присутствуют рисунки очень хорошего качества, отлично иллюстрирующие полученные автором результаты и позволяющие делать выводы о сложности и фундаментальности работы в целом. По научно-методическому уровню диссертационная работа М.В. Васильевой отвечает всем требованиям, предъявляемым к современным исследованиям в области клеточной биологии и экспериментальной онкологии. Результаты достоверны, а выводы и практические рекомендации обоснованы.

Материалы диссертации М.В. Васильевой регулярно докладывались на всероссийских съездах и конгрессах, а также международных конференциях и симпозиумах; результаты работы полностью отражены в статьях, опубликованных в ведущих отечественных и зарубежных журналах.

Замечания по диссертации

Вместе с тем, следует отметить ряд недостатков, отнюдь не умоляющих научного содержания работы и относящихся скорее к ее изложению. Первое, что усложняет восприятие материала – крайне мелкий, практически нечитаемый шрифт на рисунках (Рис. 2, 4, 5) и разная размерность при одинаковой высоте осей ординат на соседних графиках сравнения (Рис. 11, 12, 13, 14, 16, 17-19). Если бы автор представил график в одном масштабе, результаты выглядели бы нагляднее, позволяя отражать разницу не только между контролем и экспериментом, но и между разными исследуемыми клеточными линиями. В разделе 2.6. Микроскопия не указан тип и характеристики камеры, с помощью которой производилась съемка препаратов. В тексте встречаются не вполне удачные выражения (например, упомянуты ниже «более эпителиоидные контакты») и не корректные утверждения, например, на стр. 44: «Исходные и клетки контрольных сублиний A549 и HCT116 имели прерывистые и фрагментированные межклеточные контакты, однако клетки с подавленной экспрессией *NOTCH1* характеризовались более эпителиоидными контактами, по данным световой микроскопии (Рис. 10). Поскольку межклеточные контакты – это конкретная структура, которую можно выявить с помощью иммуноцитохимической окраски специфическими антителами, а на рис. 10 представлена фазово-контрастная фотография, данное утверждение не представляется правильным (по-видимому, имеет место терминологическая неточность). Возможно также, следовало бы использовать в тексте термин «сокультивирование» (от «совместное культивирование») вместо «кокультивирование». Есть сложность с восприятием названий культур мезенхимальных клеток десны (МКд), меняющихся по мере выполнения работы, что было обусловлено соответствующими модификациями этих клеток. Иногда не вполне понятно, о какой линии идет речь – на рисунке 23, по-видимому, имеется ввиду, что верхняя панель фотографий иллюстрирует анализ маркеров в МКд1, а нижняя панель – в МКд2?

Заключение

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Васильевой М.В. – это законченный труд, открывающий перспективы для дальнейшего исследования механизмов, приводящих к развитию злокачественных опухолей. Диссертационная работа Васильевой Марии Вадимовны на тему «Влияние изменений Notch-зависимых сигнальных путей на свойства клеток солидных опухолей и прогрессию новообразований» является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований осуществлено решение актуальной научной задачи – на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях исследовано влияние Notch-зависимых сигнальных путей на свойства клеток различных линий злокачественных опухолей, патогенез и прогрессию новообразований, что имеет важное значение для теоретической и практической онкологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов, 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 заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Заведующий лабораторией клеточной подвижности
отдела электронной микроскопии
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»,
доктор биологических наук
(03.00.11 – Эмбриология, гистология и цитология)



Алиева Ирина Борисовна
26.02.2025

Подпись д.б.н. Алиевой И.Б. заверяю

Ученый секретарь
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»,
кандидат биологических наук



Севостьянова Ирина Александровна

И.о.директора
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»,
член-корреспондент РАН, профессор, доктор химических наук,




Сергиев Петр Владимирович

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

Тел. +7 (495) 939-53-59

www.belozersky.msu.ru, fxb@genebee.msu.su