

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Боженко Владимира Константиновича, заведующего отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгено-радиологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Малек Анастасии Валерьевны на тему «Возможности применения нановезикулярных технологий в онкологии», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 — онкология.

### Актуальность темы

За последние несколько лет достигнут существенный прогресс в понимании природы нано-размерных объектов и развитии нано-технологий. Появился термин «нано-медицина» и сформировалась технологическая основа для создания и внедрения в практическую медицину биотехнологических методов наноразмерных компонентов.

Особый интерес представляют нано-везикулы, которые секретируются клетками и опосредуют механизм везикулярного межклеточного транспорта. Биохимический состав нано-везикул отражает биохимический состав и состояние клеток, а структура нано-везикул обеспечивает их физическую стабильность и возможность циркуляции в составе биологических жидкостей. Современные исследования в области физиологии, клеточной и субклеточной биологии указывают на важное физиологическое значение везикулярного «межклеточного взаимодействия» и большой диагностический и лечебный потенциал нано-везикул.

Технологии выделения, анализа и модификации нано-везикул активно используются в научных лабораториях для решения фундаментальных задач. Вопросы применения нано-везикулярных технологий в практической медицине остаются открытыми. Поэтому исследования, цели и задачи

которых исходят из потребностей практической медицины, а методология которых обеспечивается современными нано-везикулярными технологиями, безусловно, актуальны. С учетом социальной значимости проблемы своевременной диагностики и эффективной терапии онкологических заболеваний актуальность внедрения нановезикулярных технологий в онкологии несомненна.

### **Содержание работы**

Структура диссертации организована по монографическому типу. После традиционного введения следует глава, посвященная основному объекту исследования (нано-везикулам, или экзосомам). В этом разделе достаточно подробно описана история исследования мембранных нановезикул, представлены основные методологические подходы, изложена современная концепция участия нановезикул в развитии онкологических заболеваний и сформулированы основные задачи исследования. Структура основной части диссертационной работы соответствует этим задачам. Каждая из четырех глав работы посвящена решению отдельной задачи исследования и содержит краткий обзор тематической литературы, описание методологии, изложение результатов и формулировку выводов.

Так, в главе 2 представлены результаты разработки новых методов выделения экзосом, которые, по утверждению автора, оптимизированы под задачи использования в клинической практике. В главе 3 представлены результаты разработки и оценки методов диагностики ряда онкологических заболеваний, основанных на анализе везикулярных микроРНК. В главе 3 изложены результаты исследования роли экзосом плазмы в процессе метастатической диссеминации рака молочной железы. В последней главе 4 предложен оригинальный метод «упаковки» терапевтических РНК с помощью катионных полимеров и экзосом, и представлены результаты оценки физических и функциональных характеристик трансфекционных комплексов, в состав которых входят терапевтические молекулы РНК,



синтетические полимеры и нано-везикулы. В заключение подведены итоги исследования, изложены выводы и перспективы практического применения полученных результатов.

В целом, диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 353 источника. Общий объем диссертации 266 страниц, включая 12 таблиц и 44 иллюстрации.

**Степень обоснованности научных положений и выводов,  
сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

В представленной работе традиционные вопросы практической и фундаментальной онкологии решались с помощью инновационных подходов, предполагающих выделение и анализ биохимического состава мембранных нановезикул из физиологических жидкостей. Каждое из четырех положений, вынесенных автором к защите, основано на результатах, представленных в отдельных главах диссертации.

Так, возможность оптимизации и применения в клинической практике методов выделения нано-везикул из биологических жидкостей доказана тремя новыми технологиями, оригинальность которых подтверждена публикациями и патентами. Положение о высоком диагностическом потенциале везикулярных микроРНК основано на результатах оценки традиционных показателей диагностической значимости: специфичности и чувствительности. Предложенные автором подходы к диагностике колоректального рака и рака предстательной железы имеют очевидные предпосылки практического применения. В случаях дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы и прогноза эффекта неоадьювантной терапии при раке молочной железы, предложенные автором подходы требуют дополнительных исследований. Возможные способы технологической оптимизации методов анализа везикулярных микроРНК представлены автором в отдельных разделах диссертационной работы. В

рамках исследования роли циркулирующих экзосом в процессе метастатической диссеминации был проведен анализ биохимического состава нановезикул плазмы, в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показан эффект стимуляции адгезивной активности и подвижности клеток рака молочной железы нано-везикулами плазмы, исследованы молекулярные механизмы этого эффекта. Полученные результаты являются обоснованием положения о патологической роли, которую играет взаимодействие циркулирующих опухолевых клеток и нано-везикул плазмы, в процессе метастатической диссеминации. В заключительном положении автор постулирует возможность использования нано-везикул для оптимизации функциональных характеристик системы «доставки» терапевтических молекул РНК на основе катионных полимеров. Данное положение обосновано результатами исследования физических характеристик комплексов, состоящих из РНК, полиэтиленimina и везикул, данными *in vitro* и *in vivo* экспериментов.

Кроме инновационного характера разработанных методов, в работе представлены новые научные данные, создающие фундамент для разработки новых терапевтических подходов. Например, феномен стимуляции метастатического потенциала циркулирующих опухолевых клеток нано-везикулами плазмы указывает на возможность разработки нового подхода к профилактике метастатической диссеминации путем модификации состава циркулирующих везикул. Впервые было показано, что «трансфекционная» активность нано-везикул зависит от клеток, которые их секретируют. Это наблюдение указывает на существование механизмов регуляции и, соответственно, способов искусственной модификации «трансфекционной» активности везикул и создание новых высокоэффективных систем доставки терапевтических РНК.



## **Практическая значимость результатов исследования**

В работе предложены новые методы выделения нановезикул из биологических сред и определены основные «точки приложения» нановезикулярных технологий в онкологии. В рамках исследования получены новые научные данные, показывающие практические возможности применения технологий выделения, анализа и модификации мембранных нановезикул для решения диагностических и лечебных задач в онкологии.

### **Замечания и дискуссионные вопросы:**

В качестве замечаний хотелось обратить внимание автора на общий характер выводов. Например, первый вывод содержит перечисление патентов, зарегистрированных в области разработки методов выделения микровезикул, но не содержит смысловой информации, в чем же заключается особенность полученных автором результатов. Второй вывод, посвященный разработке методов диагностики на основе анализа микроРНК в микровезикулах также слишком оптимистичен. Объем исследованных образцов и патологий никак не позволяет сделать вывод о перспективности использования исследованных подходов для их использования в скрининге онкологической патологии.

В тоже время, хотелось подчеркнуть, что сделанные замечания не снижают ценность проделанных исследований и полученных результатов.

### **Заключение**

Диссертация Малек Анастасии Валерьевны «Возможности применения нановезикулярных технологий в онкологии» является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение ряда проблем, имеющих потенциальное или практическое значение для онкологии.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Малек Анастасии Валерьевны полностью соответствует требованиям «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 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Официальный оппонент:

заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгено-радиологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации  
доктор медицинских наук

Боженко Владимир Константинович

«29» октябре 2021г.

Подпись доктора медицинских наук  
Боженко В.К. «заверяю»

Ученый секретарь  
ФГБУ РНЦРР Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор



Цаллагова З. С./