

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научно-технологическому развитию

ФГАОУ ВО Первый

МГМУ им. И.М.Сеченова

Минздрава России

(Сеченовский Университет)

д.ф.н. профессор В.В. Тарасов

2026 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) о научно-практической значимости диссертации Тамкович Светланы Николаевны на тему: «Дезоксирибонуклеопротеиновые комплексы и экзосомы при раке молочной железы: диагностический потенциал и биологическая роль», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки) и 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы выполненного исследования, её связь с планами медицинских отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Тамкович С.Н. посвящена одной из актуальных проблем современной онкологии - раку молочной железы, который имеет первое место по встречаемости среди злокачественных заболеваний женщин. Исследуемое в данной работе направление касается прежде всего проблемы своевременной диагностики заболевания, а также понимания молекулярных механизмов роста и распространения опухоли. Несмотря на активные исследования в этой области, тонкие механизмы канцерогенеза остаются неясными, хотя известно, что они разнообразны, связаны с гетерогенностью опухоли и передачей сигналов от первичного очага к клеткам опухолевого микроокружения. Исследование секретируемых опухолью и выявляемых в крови дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом также является научными предпосылками для поиска новых маркеров неинвазивной диагностики злокачественных заболеваний, в том числе рака молочной железы. Учитывая высокую заболеваемость раком молочной железы, преимущественно среди женщин трудоспособного возраста, такое направление весьма актуально не только в научном, но и в клиническом плане.

Таким образом, в диссертационной работе С.Н.Тамкович впервые выполнен комплексный анализ циркулирующих в крови дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом при раке молочной железы, предпринят мультидисциплинарный подход, включающий изучение молекулярных механизмов развития злокачественного заболевания и поиск новых маркеров, определение которых может повысить выявление опухоли в более ранние сроки, и, следовательно, снизить инвалидизацию и смертность.

Научная новизна исследования

Научная новизна исследования не вызывает сомнений. В работе Тамкович С.Н. впервые выявлены белки в составе дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов крови в норме и при раке молочной железы и предпринята попытка предсказать строение ДНК-белковых комплексов с учетом ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий. Кроме того, автор убедительно показывает, что внеклеточная ДНК обладает биологической активностью только в комплексе с белками. В частности, у больных раком молочной железы в составе дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов увеличивается представленность белков-«пассажира», стимулирующих инвазию, ангиогенез, пролиферацию, миграцию клеток и регулирующих иммунный надзор, при этом представленность ДНК-связывающих белков в норме и при ЗНО сопоставима.

Выявленные в диссертационной работе особенности фрагментации и строения концов внеклеточной ДНК плазмы и ассоциированной с форменными элементами ДНК подтверждают различные механизмы генерации ДНК, циркулирующей в крови в норме и при патологии.

Изучение морфологии экзосом с помощью крио-электронной микроскопии впервые позволило описать различие между экзосомами плазмы и экзосомами крови в норме и при злокачественном новообразовании. Масс-спектрометрический, а затем биоинформатический анализ протеома экзосом позволили получить убедительные данные, указывающие на значимую роль белков в составе экзосом в диссеминации рака молочной железы. Использование первичных эндотелиоцитов, а также псевдонормальных и злокачественных эпителиоцитов молочной железы позволило автору продемонстрировать, что циркулирующие в крови онкологических больных экзосомы обладают биологической активностью и стимулируют формирование капилляроподобных структур, пролиферацию псевдонормальных и скорость миграции злокачественных клеток, при этом экзосомы крови здоровых доноров подавляют формирование капилляроподобных структур.

Исследование впервые продемонстрировало, что для разработки метода «жидкостной биопсии» рака молочной железы целесообразно использовать более высокомолекулярную и обладающую более высоким индексом метилирования ДНК, ассоциированную с клетками крови. Для обогащения опухолевой ДНК могут быть использованы уникальные для злокачественного новообразования ДНК-связывающие белки. Кроме того, белки-«пассажиры» дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом крови могут выступать в качестве независимых маркеров для дискриминации здоровых лиц и больных раком молочной железы, что имеет, без сомнения, практическое значение.

Степень обоснованности и достоверности использованных методов, а также полученных результатов и положений диссертации

Достоверность диссертационного исследования С.Н. Тамкович обусловлена количеством включенных в исследование первичных больных раком молочной железы и контрольных лиц, достаточным для проведения статистической обработки данных современными методами исследования, позволяющими изучить состав циркулирующих в крови дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом и подтвердить их предсказанную с помощью биоинформатического анализа биологическую роль на первичных, псевдонормальных и злокачественных клетках *in vitro*, а также адекватными методами биоинформатического и статистического анализа.

Таким образом, используемые в диссертационной работе методы исследования, объём и качество проанализированного материала, а также применённые подходы к статистической обработке данных обеспечивают высокую степень обоснованности и достоверности полученных результатов и сформулированных научных положений.

Полученные в работе результаты, выводы и практические рекомендации научно обоснованы и достоверны, что дает основание сделать заключение об обоснованности сформулированных автором теоретических положений и выводов. Полученные результаты наглядно представлены в диссертационной работе в 51 рисунках и 30 таблицах. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на 52 научно-практических конференциях и научных мероприятиях различного уровня. По теме диссертации автором опубликовано 100 работ, в том числе 34 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и журналах, индексируемых в международных реферативных базах данных SCOPUS и Web of Science. Получено 3 патента РФ на изобретение и 2 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационное исследование С.Н. Тамкович позволяет расширить представление о вкладе циркулирующих в крови дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом в патогенез молочной железы, а предложенные автором новые перспективные онкомаркёры имеют несомненную практическую значимость, способствуя увеличению эффективности своевременного выявления злокачественных заболеваний и, как следствие, снижению смертности от них.

Структура, содержание и оформление диссертационной работы

Диссертационная работа Тамкович С.Н. изложена на 283 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований с обсуждением, заключения, выводов, применения результатов и научных выводов, список условных сокращений, списка литературы, 19 приложений. Работа иллюстрирована 51 рисунком и 30 таблицами, имеет 519 ссылок.

Во «Введении» с учетом современных научных данных о внеклеточной ДНК и экзосомах, автор обосновывает актуальность проведенной работы, анализирует разработанность темы другими авторами, формулирует цель и задачи исследования, указывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Положения, выносимые на защиту, отражают результаты исследования и не вызывают возражений.

В главе 1 «Обзор литературы», содержащей 5 частей с заключением, представлен подробный анализ современных данных о клинко-эпидемиологических особенностях рака молочной железы, достоинствах и недостатках инструментальных и молекулярных методов диагностики данного заболевания. Затем автор переходит к перспективам использования «жидкостной биопсии» для диагностики, прогноза и мониторинга злокачественных новообразований. С.Н. Тамкович подробно освещает работы по анализу происхождения внеклеточной ДНК в кровотоке, формах ее циркуляции и биологической роли. Затем автор переходит к роли экзосом в развитии солидных опухолей. В работе подробно рассмотрены биогенез и биохимический состав экзосом и их биологическая роль, в частности, в канцерогенезе.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» хорошо структурирована и занимает 20 страниц подробного описания применённых в исследовании современных биохимических, молекулярно-биологических и биоинформатических методов. Дизайн свидетельствует о качественно спланированной работе. Использовано 384 образца крови, из них 190 – от здоровых женщин и 194 – от первичных больных раком молочной железы на I-II стадиях заболевания. Автор тщательно прописал критерии включения и исключения в набранные группы, клинический материал подробно охарактеризован.

Глава 3 «Исследование ДНК крови в норме и при РМЖ» содержит результаты собственных исследований и их обсуждение при разной концентрации, фрагментации, форме концов и индекса метилирования внеклеточной ДНК в плазме и ассоциированной с форменными элементами. Затем автор переходит к вопросу упаковки внеклеточной ДНК, для чего выделяет нативные гистон-содержащие дезоксирибонуклеопротеиновые комплексы аффинной хроматографией и идентифицирует белки в их составе с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. В результате биоинформатического анализа С.Н. Тамкович устанавливает биологическую роль этих белков, а также впервые выстраивает архитектуру циркулирующих в крови ДНК-белковых комплексов в норме и при раке молочной железы. Путем сравнительного анализа автор установил, что у онкологических больных в составе дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов возрастает представленность белков, стимулирующих инвазию, ангиогенез, пролиферацию, миграцию клеток, регулирующих иммунный надзор. Автор убедительно показывает, что при онкологии возрастает доля секретированной ДНК и снижается доля ДНК апоптотического происхождения. Несомненной практической значимостью в диссертационном исследовании обладают данные об уникальных белках в составе циркулирующих в крови онкологических больных ДНК-белковых комплексов, поскольку их можно использовать как для обогащения опухолевой ДНК, так и в качестве самостоятельных онкомаркеров для жидкостной биопсии рака молочной железы.

Глава 4 «Сравнительный анализ состава экзосом плазмы и экзосом крови здоровых женщин и больных раком молочной железы» содержит результаты собственных исследований и их обсуждение при разной концентрации, морфологии и составе везикул. С использованием таких современных подходов как крио-электронная микроскопия, анализ траектории частиц, MALDI-TOF масс-спектрометрия и т.д., автор убедительно показывает, что экзосомы плазмы и ассоциированные с форменными элементами экзосомы являются разными субпопуляциями как по морфологии, так и по белковому составу. При онкологическом заболевании возрастает и концентрация экзосом плазмы, и экзосом крови. Идентификация белков экзосом и последующий биоинформатический анализ позволили С.Н. Тамкович показать, что опухоль-ассоциированных белков выявляется в составе экзосом крови больше, чем в составе экзосом плазмы. Более того, экзосомы крови больных раком молочной железы обогащены белками, стимулирующими эпителиально-мезенхимальный переход, клеточную пролиферацию, инвазию и подвижность, а у лиц контрольной группы экзосомы обогащены белками, ингибирующими эти процессы. Автор убедительно показывает, что использование белков экзосом крови более информативно для дифференцирования здоровых женщин и больных раком молочной железы по сравнению с белками экзосом плазмы.

Глава 5 «Влияние молекулярного груза экзосом крови на диссеминацию рака молочной железы» содержит результаты собственных исследований и их обсуждение по биологическим эффектам экзосом в экспериментах *in vitro*. Автор впервые показал, что внеклеточная ДНК входит в состав короны, а не внутреннего содержимого экзосом, а доля такой ДНК

пренебрежимо мала по сравнению с общим количеством циркулирующей в крови ДНК. В результате экспериментов по стимуляции экзосомами формирования капилляроподобных структур первичными эндотелиоцитами, стимуляции пролиферации и подвижности незлокачественных и злокачественных эпителиоцитов молочной железы, получены научные данные фундаментального характера, на основании которых сделаны выводы о значимости содержимого экзосом крови в опухолевой диссеминации.

Раздел «Заключение» содержит обобщение полученных в диссертационном исследовании результатов и их обсуждение по сравнению с литературными данными.

Автореферат полностью соответствует диссертации, изложен на 39 страницах, включает 7 рисунков и 8 таблиц.

Принципиальных замечаний по рецензируемой диссертации нет.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки), а именно пунктам 2. Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.) и 3. Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики онкологических заболеваний и паспорту специальности 1.5.4 Биохимия, а именно пункту 1. Проблемы строения, свойств и функционирования отдельных молекул и надмолекулярных комплексов в биологических объектах, изучение молекулярной организации структурных компонентов, выяснение путей метаболизма и их взаимосвязей.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные С.Н. Тамкович в ходе выполнения исследования данные и сформулированные положения в настоящее время используются в процессе обучения студентов в курсе «Биохимия патологических состояний» на кафедре Клинической биохимии Института медицины и медицинских технологий Новосибирского государственного университета.

Заключение

Диссертационная работа Тамкович Светланы Николаевны «Дезоксирибонуклеопротеиновые комплексы и экзосомы при раке молочной железы: диагностический потенциал и биологическая роль», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки) и 1.5.4. Биохимия, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение крупной научной проблемы, имеющей фундаментальное и практическое значение для биохимии и молекулярной медицины – выявление протемного состава циркулирующих в крови больных раком молочной железы дезоксирибонуклеопротеиновых комплексов и экзосом и использование новых маркеров для диагностики заболевания методом жидкостной биопсии.

По объему и методологическому уровню проведенных исследований, научной новизне и значимости результатов, а также количеству публикаций, диссертационная работа С.Н. Тамкович полностью соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г № 842 (в редакции от 16 октября 2024 г), предъявляемым к диссертациям на

соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Тамкович Светлана Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки) и 1.5.4. Биохимия.

Диссертационная работа рассмотрена, отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского и кафедры биологической химии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 07 от 27 апреля 2026 г).

Д.м.н., профессор кафедры онкологии,
радиотерапии и реконструктивной хирургии
Института клинической медицины имени
Н.В. Склифосовского

Алясова Анна Валерьевна

Д.б.н., профессор, заведующий
кафедрой биологической химии
Института цифрового биодизайна
и моделирования живых систем

Глухов Александр Иванович

Подписи профессоров
Алясовой А.В. и Глухова А.И. заверяю
Ученый секретарь, д.м.н., профессор



Воскресенская Ольга Николаевна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени
И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский
Университет) 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
+7 (495) 609-14-00, rectorat@staff.sechenov.ru
сайт: <https://www.sechenov.ru>