

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
доктора биологических наук Долговой Евгении Владимировны по теме
«Интернализация двуцепочечной ДНК низкодифференцированными клетками
млекопитающих и использование этого свойства при лечении экспериментальных
опухолей», по специальности 1.5.22 клеточная биология (биологические науки)

Диссертационная работа Е.В. Долговой посвящена крайне актуальной фундаментальной и прикладной проблеме современной онкологии и клеточной биологии – изучению биологии опухолевых стволовых клеток (ОСК) и разработке на этой основе новых терапевтических стратегий. Исследование выполнено на высоком научном уровне, отличается широтой охвата, комплексным подходом и сочетанием современных методов молекулярной и клеточной биологии. Полученные результаты имеют существенную научную новизну и значительный практический потенциал, что подтверждается внушительным списком публикаций в высокорейтинговых журналах, шестью патентами и высокой государственной наградой – премией Президента Российской Федерации в области науки и инноваций.

Актуальность темы не вызывает сомнений и убедительно обоснована автором. Онкологические заболевания устойчиво занимают второе место среди причин смертности, а существующие методы терапии, несмотря на постоянное совершенствование, не решают проблемы рецидивирования и метастазирования. В последние десятилетия все большее признание получает концепция опухолевых стволовых клеток, которые рассматриваются как ключевой фактор резистентности к химио- и радиотерапии, а также как источник рецидивов. Именно поэтому поиск универсальных маркеров опухолевых стволовых клеток и разработка подходов к их таргетной элиминации являются магистральными направлениями современных исследований. Работа Е.В. Долговой полностью соответствует этой логике и предлагает оригинальное решение указанной проблемы.

Основная научная новизна работы заключается в следующем. Впервые на нескольких моделях (гемопоэтических стволовых клетках мыши, мышинной карциноме Кребс-2 и Эпштейна-Барр-индуцированной В-лимфоме человека) было продемонстрировано свойство низкодифференцированных клеток активно интернализировать экстраклеточную двуцепочечную ДНК (дцДНК) без применения каких-либо трансфецирующих агентов. Автором не только описан сам феномен, но и детально исследован молекулярный механизм этого процесса. Показано, что интернализация включает первичное электростатическое взаимодействие отрицательно заряженных молекул ДНК с клеточной мембраной, последующее связывание с гепарин-связывающими сайтами поверхностных белков и последующий эндоцитоз по клатрин- и/или кавеолин-зависимому пути. Установлено, что за этот процесс отвечают три функциональные группы белков гликокаликса: протеогликаны/гликопротеины, скавенджер-рецепторы и GPI-заякоренные белки. Важно, что для разных типов ОСК эти группы могут быть представлены разными конкретными молекулами, но выполняют общую функцию, обеспечивающую интернализацию экстраклеточной дцДНК.

На основе обнаруженного свойства разработана и экспериментально обоснована принципиально новая терапевтическая стратегия «Каранахан», направленная на таргетную элиминацию ОСК путем хронометрического комбинирования цитостатиков (циклофосфамид, митомицин С) и препаратов дцДНК. Ключевой идеей является введение

препарата ДНК в фазу демаркации двух этапов репарации двуцепочечных разрывов – эксцизионной репарации нуклеотидов и гомологичной рекомбинации, что приводит к интерференции репарационного процесса и гибели ОСК. Высокая эффективность технологии доказана на ряде экспериментальных моделей агрессивных опухолей: карцинома Кребс-2 в асцитной и солидной формах, гепатома Г-29, карцинома Льюиса, лимфосаркома RLS, а также ортотопический ксенотрансплантат человеческой глиобластомы U87.

Теоретическая значимость работы состоит в углублении понимания фундаментальных свойств ОСК и механизмов взаимодействия клетки с экстраклеточной ДНК. Полученные данные расширяют представления о биологии низкодифференцированных клеток, их поверхностном аппарате и путях эндоцитоза. Обнаруженное свойство интернализации дцДНК может рассматриваться как важная индикаторная характеристика ОСК, а предложенный флуоресцентно-меченый зонд Alu-TAMRA – как перспективный инструмент для детекции и изучения этих клеток в опухолевых образцах. Практическая значимость проявляется в двух ключевых аспектах. Во-первых, это создание потенциального универсального маркера для выявления ОСК различных нозологий, что открывает возможности для оценки стадии прогрессии опухоли и контроля эффективности терапии. Во-вторых, это разработка прототипа новой противоопухолевой терапии, прошедшей успешную доклиническую апробацию и частично валидированной в клиническом исследовании персонифицированной химиотерапии рака молочной железы.

Работа написана понятным языком, обширный литературный обзор дает глубокое представление о проблеме опухолевых стволовых клеток и современном состоянии исследований в этой области. Описание материалов и методов дает возможность оценить точность выполнения экспериментальных процедур и воспроизводимость полученных результатов. Результаты изложены подробно, с глубоким обсуждением каждого тезиса. Текст автореферата соответствует диссертации.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. В работе использован широкий спектр современных методов: проточная цитометрия и сортировка клеток, конфокальная микроскопия, трансмиссионная электронная микроскопия, секвенирование РНК с последующей валидацией методом количественной ПЦР, анализ формирования сфер, эксперименты *in vivo* на нескольких моделях опухолей, патоморфологический анализ. Полученные данные прошли статистическую обработку, а основные результаты опубликованы в 42 статьях, из которых 41 входит в перечень ВАК, базы Web of Science и/или Scopus. Материалы диссертации широко апробированы на российских и международных конференциях.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

Диссертационная работа Долговой Евгении Владимировны представляет собой законченное, масштабное и глубокое научное исследование, вносящее существенный вклад в развитие клеточной биологии и онкологии. Выявленное фундаментальное свойство ОСК и разработанная на его основе терапевтическая платформа «Каранахан» открывают новые перспективы как для фундаментальной науки, так и для практической медицины. Достоверность, полнота изложения и объективность полученных данных, их фундаментальная и практическая значимость не вызывают сомнений.

Считаю, что диссертационная работа Долговой Евгении Владимировны соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» степеней

(постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, в текущей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология (биологические науки).

Доктор биологических наук,
заместитель директора по научно-технологическому
развитию Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
ведущий научный сотрудник, руководитель
лаборатории инструментальной геномики
НИИ медицинской генетики Федерального
государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,

Васильев Станислав Анатольевич



«18» сентября 2026 г.

Контактные данные:

тел.: +7(909)5454996, e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 1.5.7. Генетика

Адрес места работы:

634050, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
Научно-исследовательский институт медицинской генетики
Тел.: +7 (3822) 513146; e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Подпись д-ра биол. наук С.А. Васильева удостоверяю
Ученый секретарь Федерального
государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»
кандидат биологических наук
Хитринская Ирина Юрьевна



«18» сентября 2026 г.