

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

**ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ
БИОЛОГИИ**

СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИМКБ СО РАН)

пр. Академика Лаврентьева, д. 8/2, Новосибирск, 630090

телефон (383) 3639042, факс (383) 3639078

e-mail: info@mcb.nsc.ru

<http://www.mcb.nsc.ru>

ОКПО 30781167, ОГРН 1115476157070,

ИНН / КПП 5408291757 / 540801001

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Ин-
ститут молекулярной и клеточной
биологии Сибирского отделения
Российской академии наук
(ИМКБ СО РАН)
доктор биологических наук
Демаков С.А.



01.09.2026 № 15318-05-271/93

На № _____ от _____

1 сентября 2026 года.

ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу Долговой Евгении Владимировны «Интернализация двуцепочечной ДНК низкодифференцированными клетками млекопитающих и использование этого свойства при лечении экспериментальных опухолей», представленную в диссертационный совет Д003.074.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки)

Актуальность исследования.

Известно, что онкозаболевания занимают второе место в мире по смертности и частота их возникновения неуклонно растет – чему способствуют различные факторы, в том числе, увеличение продолжительности жизни. Отмечается также неуклонная тенденция к «омоложению рака». Разработка новых методов диагностики и терапии рака представляют собою первостепенные задачи современной науки.

Несмотря на применение всё новых методов лечения онкозаболеваний, сохраняется высокая вероятность рецидивов в течение 5 лет после курса терапии (30-50%). Решение проблем, связанных с высоким уровнем рецидивов осложнено, в том числе, отсутствием универсальных маркеров детекции гетерогенного пула, так называемых, опухолевых стволовых клеток (ОСК) и невозможностью их полного уничтожения (эрадикации) в связи с их высокой метаболической пластичностью и устойчивостью к терапии.

Современные исследования по разработке новых стратегий сосредоточены, в том числе, на выявлении биологических особенностей «бессмертных» ОСК, отличающих их от основной массы коммитированных клеток опухоли.

Значимость данной работы заключается в выявлении ранее неизвестной избирательной способности ОСК интернализировать фрагменты экстраклеточной двухцепочечной ДНК (дцДНК). Далее на основании исследований был разработан, протестирован на экспериментальных опухолях и запатентован новый протокол таргетной эрадикации ОСК (Каранахан) - малодозовое хронометрическое воздействие кросслинкирующим цитостатиком, дополненное инъекциями многокомпонентного препарата дцДНК. Полученные результаты открывают также новые перспективы по созданию универсального маркера и детекции ОСК с помощью меченого дцДНК-зонда.

Структура диссертационной работы.

Диссертация Долговой Е.В. написана и оформлена согласно требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени доктора наук, и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы и 4 приложений. Текст диссертации изложен на 386 страницах, иллюстрирован 66 рисунками (включая 10 рисунков в приложениях) и 21 таблицей (включая 5 таблиц в приложениях).

Список цитируемой литературы представлен 465 публикациями по теме исследования.

Во **«Введении»** соискатель обосновала актуальность работы и основную **цель исследования** («характеристика явления естественной интернализации фрагментов экстраклеточной двуцепочечной ДНК опухолевыми стволовыми клетками, и поиск режима воздействия на экспериментальные опухоли...»), сформулировала задачи для достижения указанной цели, оценила научную новизну данного исследования и его практическую значимость, сформулировала основные положения, выносимые на защиту, предоставила сведения об апробации работы и шести патентах на изобретение, а также сведения о публикациях по теме диссертации (42 статьи, из них 41 входит в базы данных Web of Science и Scopus) и личном вкладе автора в проделанную работу.

В Главе 1. **«Обзор литературы»** автор достаточно полно отражает современное состояние проблемы, изучив внушительный объем научных публикаций отечественных и зарубежных авторов. В этой главе автор сосредоточилась на характеристике тканевых свойств опухоли и особенностях опухолевых стволовых клеток. Автор приводит суммированные литературные данные о взаимодействии эукариотических клеток с экстраклеточными нуклеиновыми кислотами и даёт описание современных методов лечения онкологических заболеваний, включая таргетное воздействие на ОСК.

В Главе 2. **«Материалы и методы»** соискатель перечисляет широкий спектр современных молекулярно-клеточных методов, которые были использованы для получения оригинальных данных как на экспериментальных животных (мышинные линии), так и на клеточных линиях опухолей мыши и человека. Статистическая обработка полученных данных была проведена с применением современного программного обеспечения GraphPad Prism v.8 и Statistica 10 (StatSoft, США).

В Главе 3 приведены **результаты исследований** и их обсуждение. Работа соискателя представлена двумя логически связанными направлениями: (а) исследование ранее неизвестного явления - естественная интернализация экстраклеточной дцДНК в стволовые клетки различного генеза; (б) использование способности дцДНК конкурировать с ферментами репарации клетки при двуцепочечных разрывах хроматина для таргетного воздействия на ОСК.

Описание результатов представлено пятью частями. Первая посвящена экспериментальному доказательству того, что в культуре клеток костного мозга мышей экстра-клеточную дцДНК интернализуют преимущественно низкодифференцированные клетки. Во второй части представлены доказательства того, что интернализующие дцДНК-зонд клетки (в культурах раковых клеток мыши и человека) являются ОСК. Третья часть посвящена исследованию механизма интернализации дцДНК в клетки модельных опухолей. В четвертой части приведена детальная хронология создания режима Каранахан для *экспериментальной терапии новообразований*. В пятой части - результаты применения протокола Каранахан на мышинных моделях с перевитыми злокачественными опухолями.

Было установлено, что характерными особенностями ОСК, позволяющими дифференцировать их в общей массе опухолевых клеток, являются: (а) преобладание положительного поверхностного заряда клеток, обеспечивающего агрегацию с клетками других типов; (б) наличие специфичных сайтов связывания дцДНК на поверхности ОСК. На основании этого был разработан принципиально новый терапевтический протокол - малодозовое хронометрическое воздействие кросслинkerующим цитостатиком (стандартный препарат для лечения рака, вызывает сшивки внутри/между нитей ДНК), дополненное инъекциями сложнокомпозиционного препарата дцДНК. Результаты применения терапевтического режима Каранахан свидетельствуют о трёх векторах воздействия: эрадикация ОСК, активация противоопухолевого им-

мунного ответа, а также индукция масштабного апоптоза коммитированных опухолевых клеток. Протокол успешно апробирован на опухолевых мышечных моделях и на модели глиобластомы человека и показал высокую эффективность. Преимущество предлагаемой терапии - возможность применения для опухолей различной нозологии, однако, сложности связаны с наличием «молчащих» ОСК.

Таким образом, в работе соискателя впервые выявлен и детально исследован природный механизм интернализации экстраклеточных фрагментов дцДНК в низкодифференцированные эукариотические клетки, включая ОСК. На основании этого разработан и успешно применён на модельных опухолевых системах новый терапевтический протокол по таргетной эрадикации ОСК для предотвращения рецидивов.

Более того, на основании исследований сформулирована новая концепция детекции опухолевых стволовых клеток с использованием «универсального» маркера для ОСК.

В Главе 4 **«Обсуждение»** автор формулирует ряд соображений, в том числе:

В отличие от отрицательно заряженных коммитированных потомков, ОСК имеют положительный заряд клеточной мембраны. Положительный суммарный заряд ОСК – важное иницирующее условие интернализации экстраклеточной дцДНК. Положительный заряд опухолевых стволовых клеток может являться механизмом выживания при атаке опухоль-реактивными положительно заряженными нейтрофилами.

Во время митоза клетка не в состоянии интернализировать дцДНК по причине реорганизации цитоскелета и подготовки к делению; при переходе в G1-фазу способность интернализации возобновляется. В связи с этим, последователь-

ный хронометраж применения сложнокомпонентного препарата дцДНК является ключевым условием.

Соискатель оценивает эффективность предлагаемого терапевтического режима: Исключительное действие терапевтического режима Каранахан заключается в том, что при его использовании происходит эрадикация ОСК, что делает остаточную опухоль максимально чувствительной к активации иммунного противоопухолевого ответа.

В **«Заключение»** автор выносит наиболее значимые положения, в частности:

Хронометрические подходы, основанные на введении препаратов в соответствии с параметрами биологических часов клетки, позволяют воздействовать на опухолевые клетки в моменты их минимальной защищенности.

По результатам исследования сформулирован ряд выводов.

Выводы автора основаны на оригинальных данных и отражают завершённость диссертационной работы. Описанные научные результаты и выводы представляются обоснованными и достоверными, что подкреплено адекватностью выбранных методов и статистической обработкой полученных данных. Результаты работы отмечены высокой научной и практической значимостью и могут быть использованы специалистами в области генетики, молекулярно-клеточной биологии, медицины и других областей.

Научная новизна и практическая значимость исследования.

Достижения современной одноклеточной транскриптомики и пространственной омики (типа PerturbFate) позволили выявить паттерны экспрессии специфичных для ОСК генов и регуляторные узлы конвергентной транскрипции. Сегодня ОСК широко признаны как фундаментальный ком-

понт формирования опухоли, резистентности к терапии, метастазирования и рецидивов заболевания. Уникальная пластичность ОСК позволяет им переходить в состояние покоя, принимать различные фенотипы и перепрограммировать свой метаболизм между разными источниками энергии, что позволяет избегать химиотерапию, иммунотерапию и облучение.

В диссертации Е.В. Долговой суммированы оригинальные данные, в которых экспериментально доказаны ранее не известные качества ОСК и описаны механизмы, влияющие на репаративные процессы. Автор также описывает результаты терапии экспериментальных животных с применением режима Каранахан, который был разработан на основе оригинальных данных.

Уникальность предлагаемого терапевтического режима Каранахан состоит в том, что воздействие происходит по трём ключевым направлениям, определяющим стойкий результат: (1) эрадикация ОСК, в результате чего опухоль лишается туморогенности; (2) активация иммунного ответа; (3) инициация тотального лизиса коммитированных опухолевых клеток.

Замечания, возникшие при прочтении диссертационной работы:

В разделе «сокращения» автор приводит слова «mean» и «median» - но это не сокращения, а перевод.

В названии диссертации и далее по тексту формулировка «...при лечении экспериментальных опухолей» не корректна. Корректнее использовать «...для терапии экспериментальных опухолей» либо «...для экспериментальной онкотерапии».

Первое упоминание ОСК на странице 11: «В последнее время все более актуальной становится теория гетерогенного строения опухоли, заключающаяся в наличии опухолевых стволовых клеток (ОСК) в опухолевом «сообществе»

(Clarke et al., 2006)...». Далее в работе нет более современного описания объекта исследований, хотя автор приводит ссылку на последний детальный обзор (Lee et al., 2025), в котором сформулировано (перевод): «Раковые стволовые клетки (РСК) представляют собой субпопуляцию клеток в опухолях, которые обладают высокой пластичностью и устойчивостью к терапии, способствуя возникновению опухоли, прогрессированию, метастазированию и рецидиву». Следует упомянуть, что термин ОСК реже используется в современной литературе, чем РСК - английская версия CSC (Cancer stem cells). Теория РСК обсуждается в научной литературе с 19 века и вызывает постоянные дискуссии. Современные данные свидетельствуют в пользу модели онкогенеза, которая учитывает как иерархические, так и стохастические механизмы. Более того, формируется мнение, что стволоподобные характеристики могут приобретать и не стволовые клетки, то есть «стволовость» - функциональное состояние, а не статичная субпопуляция клеток.

Указанные замечания не умаляют качества работы, её актуальности и научно-практической значимости и не являются препятствием к защите данной диссертации.

Заключение

Диссертация является законченной научной работой. В диссертации изложено целенаправленное исследование - от выявления уникальной особенности опухолевых стволовых клеток до успешной реализации таргетной терапии (эрадикация ОСК в экспериментальных опухолях). Результаты исследований и разработка новых стратегий, направленных на решение ключевых проблем по неоплазиям, имеют важное научно-практическое значение.

Диссертационная работа Долговой Евгении Владимировны на тему «Интернализация двуцепочечной ДНК низкодифференцированными клетками млекопитающих и использование этого свойства при лечении экспериментальных опухолей» полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу обсуждён и утверждён на семинаре Отдела структуры и функции хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук 16 июня 2026 года (протокол №2)

Зав. лаборатории молекулярной генетики человека

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

доктор биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

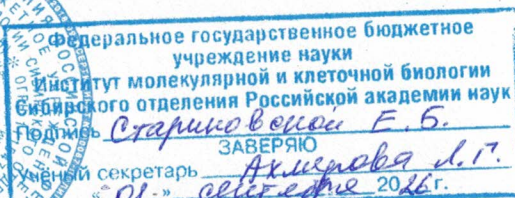
Стариковская Елена Борисовна

Подпись Стариковской Елены Борисовны удостоверяю
учёный секретарь

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

кандидат биологических наук

Ахмерова Лариса Григорьевна



Сведения о составителе отзыва.

Стариковская Елена Борисовна, доктор биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика, зав. лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук

адрес: 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева 8/2

раб.тел.: 8(383) 363-5042

e-mail: starikovsky@mcb.nsc.com