

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 05 декабря 2024 г. № 10

О присуждении Соловьевой Наталье Александровне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Протеомные сигнатуры внеклеточных везикул аденокарциномы легкого и колоректального рака» по специальности 1.5.4. – «биохимия» принята к защите 26 сентября 2024, протокол № 7, диссертационным советом 24.1.172.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № № 561/нк от 03 июня 2021 г. и Приказом Минобрнауки России № 1959/нк от 12 октября 2023 г.

Соискатель Соловьева Наталья Александровна, 1995 года рождения.

В 2018 году соискатель окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования (ФГАОУ ВО) «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории системной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Диссертация выполнена в лаборатории системной биологии

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Новикова Светлана Евгеньевна, научный сотрудник лаборатории системной биологии, научный консультант - доктор биологических наук, профессор РАН Згода Виктор Гаврилович, заведующий лабораторией системной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Официальные оппоненты:

Попов Даниил Викторович, доктор биологических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение (ФГУБН) Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, заведующий лабораторией физиологии мышечной деятельности;

Лазарев Василий Николаевич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение (ФГБУ) «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», заместитель генерального директора по научной работе, заведующий лабораторией генной инженерии;

ведущая организация – ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном кандидатом биологических наук, научным сотрудником НИЛ «Медицинская геномика» Козиным Максимом Сергеевичем, указала на некоторые замечания, небольшие неточности и поставила ряд вопросов. Так, отмечается, что в работе отсутствует описание методики построения кривой и использованного программного обеспечения при проведении ROC-анализа. В обзоре литературы суммируются известные

данные о целом ряде онкологических заболеваний, и спрашивается, почему их перечень значительно шире рассматриваемых и исследованных заболеваний в работе. Неясно, был ли проведен в работе панорамный анализ для везикул, выделенных из плазмы крови в дополнение к их таргетному анализу. Однако высказанные замечания не носят принципиального характера, не влияют на общую положительную оценку работы и не снижают её научную и научно-практическую значимость.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 10 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 7.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Soloveva N, Novikova S, Farafonova T, Tikhonova O, Zgoda V. Proteomic signature of extracellular vesicles associated with colorectal cancer //Molecules. – 2023. – Т. 28. – №. 10. – С. 4227. IF=4.6 (Wos), K1; 1,96 условных печатных листа.

В публикации описана процедура выделения внеклеточных везикул из малого объема плазмы крови. На моделях клеточных линий разработана панель маркеров, включающая 28 белков, ассоциированных с внеклеточными везикулами. Полученная белковая панель валидирована на образцах внеклеточных везикул, выделенных из плазмы крови больных колоректальным раком и здоровых добровольцев с применением направленного масс-спектрометрического метода. Определена протеомная сигнатура внеклеточных везикул, ассоциированная с колоректальным раком, состоящая из десяти белков, который позволяет отличить образцы больных с колоректальным раком от здоровых доноров. Соискатель принимала участие в планировании и проведении экспериментов, пробоподготовке образцов к протеомному анализу и подготовке материалов к публикации.

2. Novikova S.E., Soloveva N.A., Farafonova T.E., Tikhonova O.V., Liao P.C., Zgoda V.G., Proteomic signature of extracellular vesicles for lung cancer recognition //Molecules. – 2021. – Т. 26. – №. 20. – С. 6145. IF=4.6 (Wos), K1; 2,19 условных

печатных листа.

В публикации описаны результаты направленного масс-спектрометрического анализа на модельных клеточных линиях аденокарциномы легкого и плазме крови больных с раком легких и здоровых добровольцев. В результате определена протеомная сигнатура внеклеточных везикул, ассоциированная с аденокарциномой легких, включающая семь белков, которая позволяет отличить образцы больных с раком легких от здоровых доноров. Соискатель принимала участие в планировании и проведении экспериментов, пробоподготовке образцов к протеомному анализу, подготовке материалов к публикации.

3. Novikova S., Shushkova N. (Soloveva N.A.), Farafonova T., Tikhonova O., Kamyshinsky R., Zgoda V., Proteomic approach for searching for universal, tissue-specific, and line-specific markers of extracellular vesicles in lung and colorectal adenocarcinoma cell lines //International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Т. 21. – №. 18. – С. 6601. IF=5.6 (WoS), K1; 3,35 условных печатных листа.

В публикации подробно описаны условия культивирования модельных клеточных линий аденокарциномы легкого (A549 и NCI-H23) и колоректального рака (HT29, HCT-116 и CaCo-2), процедура получения внеклеточных везикул и цельного лизата, а также проведение полуколичественного масс-спектрометрического анализа для определения универсальной, ткане- и линиеспецифичных протеомных сигнатур внеклеточных везикул. Соискатель принимала участие в планировании и проведении экспериментов, пробоподготовке образцов к протеомному анализу и подготовке материалов к публикации.

4. Шушкова Н.А. (Соловьева Н.А.), Вавилов Н.Э., Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Тихонова О.В., Ляо Пао-чи, Згода В.Г., Количественный протеомный анализ экзосом крови человека //Биомедицинская химия. – 2018. – Т. 64. – №. 6. – С. 496-504. РИНЦ, Scopus, IF=1.2 (РИНЦ), K1; 0,92 условных печатных листа.

В публикации описана процедура оптимизации метода выделения

внеклеточных везикул из плазмы крови человека. В результате было показано, что наиболее эффективным для дальнейшего масс-спектрометрического анализа является метод ультрацентрифугирования с использованием сахарозной подушки. Также в публикации описан результат таргетного анализа для общепринятых маркеров экзосом. Соискатель принимала участие в планировании и проведении экспериментов, пробоподготовке образцов к протеомному анализу, обработке результатов и подготовке материалов к публикации.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

официального оппонента Попова Даниила Викторовича, доктора биологических наук, профессора РАН, ФГУБН Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, заведующего лабораторией физиологии мышечной деятельности, в котором есть вопросы и замечания дискуссионного характера, не влияющие на общее положительное впечатление от работы. В частности: 1) были ли обнаружены половые различия в исследуемых/детектируемых белках в группах мужчин и женщин?; 2) с чем связано, что часть исследований выполнена на сыворотке, а часть на плазме?; 3) какие единицы должны быть указаны по оси ОХ на рис 8 и других подобных рисунках, а также и на подписи к тепловой карте рис.10 и другим подобным тепловым картам?; 4) каковы перспективы для внедрения полученных результатов в практику и др.?

официального оппонента Лазарева Василия Николаевича, доктора биологических наук, доцента ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», заместителя Генерального директора по научной работе, заведующего лабораторией геномной инженерии, в котором есть некоторые вопросы и замечания. В частности, заданы вопросы об объёмах культуральной жидкости и сыворотки, используемых для выделения внеклеточных везикул (ВнВ) на первом этапе ультрацентрифугирования; о

выборе ультрацентрифугирования на сахарозной подушке в качестве оптимального метода для выделения ВнВ, а также с чем связано отсутствие сигнала SRM для пептидов, картированных на общепринятый маркер CD82 в образцах ВнВ и цельного лизата, и почему для получения ВнВ использовали среду с добавлением фетальной сыворотки. Отмечается, что, в работе не удалось найти информацию о методе выделения ВнВ, использованных для анализа методом криоэлектронной микроскопии. Однако указанные замечания не снижают ценности данной диссертационной работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата медицинских наук, научного сотрудника ЦКП «Геном» ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Череватовой Татьяны Борисовны замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, заместителя руководителя Центра биофармацевтического анализа и метаболомных исследований Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России Москалевой Натальи Евгеньевны, замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат доктора химических наук, заведующего лабораторией наноструктур и нанотехнологий ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук Шляпникова Юрия Михайловича отмечено, что в выводе 1 не указаны доверительные интервалы для концентраций CD9, CD82 и HSPA8, а также что было бы целесообразно привести в автореферате данные ROC-анализа и для РЛ-, и КРР-специфичных онкомаркеров с учетом высоких значений AUC в выводе 3, которые подтверждают потенциально высокую диагностическую эффективность соответствующих онкомаркеров. Однако сделанные замечания не умаляют достоинств работы и высокий уровень проведенного исследования, а обоснованность сделанных выводов не вызывает сомнений.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что доктор биологических наук Попов Даниил Викторович – опытный специалист в области транскриптомики и протеомики, автор статей в ведущих профильных отечественных и международных научных журналах; доктор биологических наук Лазарев Василий Николаевич – известный специалист в области клеточной биологии и автор ряда работ по протеогеномике раковых клеток;

ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации - один из ведущих научно-образовательных центров, в котором активно ведутся исследования, имеющие непосредственное отношение к проблематике рассматриваемой диссертационной работы (в контексте биологии раковых клеток и диагностической роли внеклеточных везикул при различных видах рака).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые применен двухэтапный подход к исследованию протеома ВнВ, ассоциированных с раком легкого и колоректальным раком;
- впервые выявлены и предложены панели белков для идентификации и прогнозирования аденокарциномы легкого и колоректального рака на основе анализа ВнВ;
- детектированы 850 белков в образцах ВнВ и в образцах нескольких клеточных линий рака легкого и колоректального рака, а с использованием полуколичественного протеомного анализа определены 11 универсальных белков, 8 тканеспецифичных белков и 29 белков, специфичных для исследованных линий клеток.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что выявленные протеомные сигнатуры ВнВ расширяют представления о биологических функциях ВнВ и их роли в процессах онкогенеза, метастазирования и

взаимодействия с микроокружением опухоли. Полученные данные могут послужить основой для дальнейших фундаментальных исследований механизмов опухолевого роста и межклеточного взаимодействия в опухолевой среде.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что полученные протеомные сигнатуры ВнВ плазмы позволяют различать образцы плазмы здоровых лиц и пациентов с раком легкого и колоректальным раком, а использование ВнВ как источника информации о состоянии опухоли может стать альтернативой или дополнением к традиционным диагностическим методам.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается тем, что диссертантом использовались современные методы исследования, а результаты работы опубликованы в высокорейтинговых международных журналах с серьезным уровнем рецензирования поступающих в редакционный портфель статей.

Личный вклад соискателя состоит в том, что им проведен поиск и анализ литературы, самостоятельно получены и проанализированы основные результаты, а также подготовлены статьи и тезисы для публикации.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

На заседании 05 декабря 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Соловьевой Наталье Александровне учёную степень кандидата биологических наук за решение актуальных вопросов, связанных с поиском потенциальных биомаркеров рака легкого и колоректального рака, которые можно детектировать в плазме крови человека, что имеет важное значение для клинической онкологии в свете современных тенденций применения малоинвазивных методов диагностики и мониторинга злокачественных заболеваний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.4. – «биохимия», участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против - 0, недействительных бюллетеней – 1.

Зам. председателя Диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН



Поройков В.В.

Ученый секретарь Диссертационного совета
кандидат химических наук



Карпова Е.А.

05 декабря 2024 года

