

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Любови Николаевны

Киселевой «Исследование действия облучения и фотемустина на выживаемость и популяционный состав клеточных линий глиобластом человека», представляемую на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Глиобластома – наиболее агрессивный и довольно часто встречающийся вид рака головного мозга во взрослой популяции (~ 7.3 случая на 100 000 в год во всем мире). Золотой стандарт терапии вновь диагностированных глиобластом включает хирургическое вмешательство с последующей радиотерапией и химиотерапией с использованием апоптоз-индуцирующих агентов, преимущественно темозоломида. При такой терапии медиана выживания составляет 15 месяцев, и главной проблемой неудачи противоопухолевой терапии является рецидив опухолевого роста. В свете этого, актуальность диссертационной работы Киселевой Л.Н. не вызывает сомнений.

Диссертационная работа посвящена изучению четырех линий глиобластом, две из которых, A172 и T98G, давно установлены в культуру, и две другие, недавно выделенные из ткани опухоли пациентов, R1 и T2, которые к моменту исследования прошли менее 30 пассажей культивирования. Автор сравнила морфологию этих клеток, скорость их роста, разницу в экспрессии глиальных генов, чувствительность четырех линий глиобластом к действию фотонного излучения и химиопрепарату фотемустин.

Некоторые факты, представленные в диссертации, не были отражены ранее в литературе, что говорит о том, что в работе присутствуют элементы новизны.



В целом, поставленные диссертантом цель и задачи исследования соответствуют названию работы и ее содержанию. Выносимые на защиту положения аргументированы и логично вытекают из материалов диссертации. Выводы диссертационной работы логично обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Исследование выполнено с соблюдением этических норм научных исследований.

Диссертационная работа Киселевой Л.Н. построена по общепринятому образцу, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», в которой описаны примененные автором методики, главы по результатам собственных исследований и обсуждения полученных результатов, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста, содержит 18 таблиц и 19 рисунков, библиографический указатель содержит 151 источник на русском и английском языках.

В главе «Литературный обзор» диссертант подробно описывает гистологические и морфологические особенности глиобластом, уделяет детальное внимание CD маркерам, экспрессирующимся на поверхности клеток глиобластом, разделяя их на мезенхимные, нейрональные, эндотелиальные и другие. Удивительно, что в число нейрональных маркеров вошел CD133, который в литературе обычно относят к маркерам стволовых клеток, в том числе и раковым стволовым клеткам. Причем, автор поясняет, что CD133 является маркером нейральных стволовых клеток, и клетки глиобластом, обладающие этим маркером, в исследовании Gunter et al. проявили мультипотентные свойства и показали усиленный опухолевый рост *in vivo*, что не согласуется с нейрональным фенотипом. В целом, глава «Литературный обзор» дает довольно полное представление о современном состоянии проблемы, неплохо написана, и единственный упрек, который можно выдвинуть диссертанту, это отсутствие иллюстраций, которые сделали

бы изложение современного состояния проблемы более дидактичным и живым.

В главе «Материалы и методы», представлено описание материалов и методов, которые автор использовала в диссертационной работе. Список методов выглядит достаточно современно, и применение этих методов позволяет провести глубокие исследования и получить убедительные результаты. Глава иллюстрирована 4 рисунками, всесторонне демонстрирующие метод облучения культур глиобластом. Такое количество иллюстраций в разделе, посвященном описанию методов, выглядит несколько избыточным, особенно на фоне отсутствия иллюстраций в Литературном обзоре. Кроме того, в главе «Материалы и методы» сведения о материалах помещены в конец раздела, после главы «Статистическая обработка», хотя место ему – в начале.

В главе «Результаты» диссертант проводит сравнение морфологических характеристик исследуемых линий глиобластом, и находит, что клетки вновь полученной линии R1 по своим свойствам напоминают клетки A172, а клетки T2 – клетки T98G. Автор оценивает ростовые характеристики данных клеток, их чувствительность к фотемустину и ионизирующему излучению, определяет экспрессию ряда поверхностных маркеров и экспрессию генов, вовлеченных в ту или иную стадию канцерогенеза. В этой главе мы наблюдаем недостаток дидактичности. Например, экспрессия поверхностных маркеров представлена на трех таблицах, 4 (стр. 49) – в интактных клетках, 6 (стр. 59) – в тех же клетках после воздействия фотемустина и 9 (стр. 67) – в тех же клетках после облучения дозой в 10 Гр. По всей видимости, задача была сравнить изменения маркеров в контрольных условиях и при воздействии, тогда почему контроль и опыт так разнесены в тексте? Логично было бы и в таблицу 6, и в таблицу 9 внести данные по интактным клеткам, и тогда было бы заметно, что экспрессия очень малого количества поверхностных маркеров меняется в процессе воздействия, но те, которые меняются, несомненно, заслуживают внимания исследователя. То же относится к рис. 8, 14 и 17, на

которых представлены данные проточной цитометрии. Помимо изотипического контроля необходимо было представить кривую, соответствующую интактным клеткам. На рис. 13 (стр. 58) отсутствует контроль, для того чтобы увидеть, что изменилось в морфологии клеточной популяции после терапевтического воздействия, надо пройти к рис.5 на стр. 45. То же касается данным по изменениям экспрессии генов, вовлеченных в опухолевый процесс.

Наиболее интересный результат, представленный в диссертации, это появление в популяции выживших после терапии крупных клеток в наиболее устойчивой к терапевтическому воздействию популяции T98G. Хотя на основании морфологических изображений, без адекватного подсчета нельзя сделать однозначный вывод об изменении размера клеток, это наблюдение интересно. Считает ли автор, что подобные клетки можно отнести к дормантным клеткам, которые обеспечивают рецидив опухолевого роста?

Кроме того, нельзя не отметить некоторые стилистические огрехи, такие как, к примеру, «методом МТТ» (надо: «с помощью метода МТТ»).

В главе «Обсуждение» автор дает лаконичный, но емкий сравнительный анализ совокупности данных, имеющихся в мировой и отечественной литературе и результатов, полученных в ходе диссертационного исследования, что дает основание для полноценных выводов.

В диссертационной работе также присутствует глава «Заключение», в котором проводится обобщение всей работы.

«Выводы» хорошо обоснованы полученными данными и соответствуют поставленным цели, задачам и полученным результатам.

Материалы диссертации полностью отражены в автореферате и в достаточном количестве опубликованных работ (4 статьи в журнале Цитология, рекомендованного ВАК Минобрнауки России для размещения материалов кандидатских диссертаций). Основные результаты работы были доложены на 5 отечественных конференциях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Диссертационная работа Любови Николаевны Киселевой «Исследование действия облучения и фотемустина на выживаемость и популяционный состав клеточных линий глиобластом человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, направленной на оценку действия противоопухолевой терапии и выявления ранее неизвестных процессов резистентности глиобластом, возникающих в под воздействием облучения и химиопрепарата фотемустин. Современный дизайн исследования, адекватные подходы и методы исполнения, достаточный объем полученных данных, их научная трактовка, а также актуальность исследования позволяют заключить, что диссертационная работа Киселевой Любови Николаевны полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. №1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Киселева Любовь Николаевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки).

Зав. Отделом молекулярных
и клеточных взаимодействий
Института цитологии РАН,
доктор биологических наук

Гужова И.В.



Подпись руки Гужовой И.В.
26.08.2022 г.
Балагуина Я.В. 5

194064, Россия, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект 4,
Тел: (812) 297-18-29, Сайт: <https://www.incras.ru/> ; e-mail: cellbio@incras.ru