

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук,

Згоды Виктора Гавриловича

**на диссертационную работу Черепанова Сергея Александровича
«ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ HEDGEHOG
НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ
НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИОМ», представленную к
защите в диссертационного совет Д 208.072.14 на базе Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования "Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства
здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия»**

Актуальность темы диссертации

Подходы к лечению опухолей мозга и особенно глиобластомы занимают отдельное положение в онкологии. Ограниченные возможности хирургического вмешательства, высокая резистентность клеток опухоли к химио- и радиотерапии, почти неизбежные рецидивы после лечения обуславливают высокий уровень смертности при данном онкозаболевании.

Сейчас понятно, что для лечения данного вида онкологии необходимы принципиально новые подходы, основанные на детальном понимании молекулярных процессов происходящих в раковых клетках, нахождении особенностей регуляции процессов пролиферации и апоптоза и на основании этих данных поиск таргетных мишеней для воздействия на патологические клетки.

Одной из перспективных точек для воздействия является сигнальный путь HEDGEHOG. Показано, что данный сигнальный путь регулирует основные клеточные процессы, такие как пролиферация, миграция и инвазивная активность клеток, ангиогенез, апоптоз и др. Именно эти процессы лежат в основе

канцерогенеза и разобщение, нарушение любой из этих функций могут приводить к развитию онкологического заболевания.

Наиболее адекватными и современными моделями для изучения сигнальных путей являются клеточные линии, характеризующие низкодифференцированные глиомы.

Поэтому поставленная задача по изучению влияния сигнального пути Hedgehog на пролиферацию и химиорезистентность низкодифференцированных глиом на модели клеточных линий мультиформной глиобластомы человека U-251 MG и U-87 MG является актуальной, а детальное исследование молекулярных механизмов развития глиобластом, не только обогащает науку новыми фундаментальными знаниями, но также может стать основой принципиально новых подходов лечения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Основные положения, выносимые на защиту, и выводы работы являются хорошо обоснованными и подкрепляются публикациями автора диссертации в международных журналах.

В работе диссертанту удалось показать, что сигнальный путь Hedgehog вовлечен в регуляцию клеточной пролиферации низкодифференцированных глиом. Кроме того диссертантом убедительно доказана вовлеченность сигнального пути Hedgehog в мультилекарственную резистентность низкодифференцированных глиом, что открывает возможности для работ в области разработки принципиально новых, таргетных методов терапии. Важным являются методические разработки автора диссертации. Так, в работе показано, что оценка уровня транскрипции основных генов сигнального пути (GLI1 и tGLI1) методом ПЦР в реальном времени обладает ограниченной информативностью для характеристики процессов пролиферации и резистентности к химиотерапии. С другой стороны, предложенное автором сочетание методов измерения электрического импеданса и проточной цитофлуориметрии позволяет дифференцированно оценить влияние ингибиторов сигнального пути как на пролиферацию клеток, так и на цитотоксическое

действие препаратов. Эффективность разработанной методики валидирована при проведении качественной оценки активности сигнального пути Hedgehog (HH).

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Автором используется комплекс современных высокоточных приборов поэтому достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в рецензируемой работе не вызывает сомнений.

Полученные автором данные с одной стороны подтверждают уже сложившиеся представления о фундаментальной роли HH в регуляции клеточных процессов, с другой стороны, предоставляют новые знания, которые позволят в дальнейшем начать работу по направленному подбору комбинаций ингибиторов для разработки персонализированных подходов в терапии низкодифференцированных глиом.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Диссертационные материалы получили адекватное отражение в 10 публикациях автора, в числе которых 6 статьи, опубликованные в профильных периодических изданиях. Результаты работы С. А. Черепанова многократно представлялись на международных и отечественной научных конференциях.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации

Диссертация С. А. Черепанова имеет традиционную структуру и включает введение, литературный обзор, экспериментальную часть, три части с обсуждением собственных результатов, выводы, список литературы и одно приложение. Текст изложен на 123 страницах, сопровождается 23 рисунками и 1 таблицей. Список литературы включает 271 публикацию.

Во введении С. А. Черепанов раскрывает актуальность проведенного исследования и подводит к постановке цели и задач исследования. Также автором обозначены научная значимость, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация работы.

В обзоре литературы С. А. Черепанов с необходимой полнотой отражает предпосылки выбора в качестве объекта исследований пути внутриклеточного

сигналинга Hedgehog. В дальнейшем автор подробно рассматривает опубликованные данные о заболеваниях, ассоциированных с нарушениями в генах и белках сигнального пути Hedgehog, а также рассмотрены особенности функционирования данного сигнального пути при глиомах. Обзор методов и соединений, которые ингибируют HH путь на различных этапах внутриклеточной передачи сигнала является логичным продолжением литературного обзора и позволяет определить методические подходы, которые автор использовал в своей работе. В заключительной части литературного обзора С. А. Черепановым проведен детальный анализ влияния сигнального пути Hedgehog на ключевые процессы онкогенеза, включая: пролиферативную активность; процессы ангиогенеза; метастазирование; миграционную и инвазивную активность клеток.

Таким образом, первая глава работы свидетельствует о глубине теоретической подготовки диссертанта.

Во второй главе приводится описание реактивов, экспериментального оборудования и применяемых методов. Учитывая, что все эксперименты были проведены лично автором рукописи, можно судить о высокой методической подготовке автора.

Разделы «Результаты» и «Обсуждение» построены по четкой и логичной схеме. Основные результаты изложены в логичном порядке в соответствии с поставленными задачами. Каждый из подразделов завершается кратким резюме, суммирующим основные достижения по поставленной задаче.

Выводы работы диссертантом сформулированы четко и логично вытекают из приведенных результатов исследования. Исследование проведено на высоком методическом уровне, проделан большой объем работы. Полученные результаты обладают несомненной новизной и значимостью; могут быть использованы в исследованиях по изучению внутриклеточных сигнальных путей.

Рукопись написана логично, последовательно и доступно для понимания специалистам широкого профиля в области биохимии. Диссертационная работа носит полноценный и заверченный характер как в научном плане, так и в оформлении. Диссертация заслуживает высокой оценки, является весьма актуальной и не содержит существенных недостатков. Тем не менее, при ознакомлении с диссертацией возникли следующие замечания:

1) Не были обнаружено увеличение уровня экспрессии мРНК tGli в образцах. Однако, согласно ингибиторному анализу вовлеченность НН есть. Хотелось более подробного объяснения этого феномена. Это шунтирование НН сигнального пути минуя ключевую молекулу Gli? Или может концентрация белка Gli (tGli) увеличена в клетке за счет стабилизации/сниженного уровня деградации?

2) Современное состояние биологической науки таково, что трудно ожидать значительных (кратных) изменений измеряемых параметров. Поэтому важно уделять особое внимание статистической обработке результатов и наглядно демонстрировать значения статистической достоверности различий. Автор подробно описывает использованные статистические подходы в разделе МиМ, но не указывает значения достоверности при демонстрации экспериментальных данных. Так, в подписях к рисункам ни разу не указано ни число экспериментов, по которым вычислены статистические данные не сами показатели достоверности.

Следует отметить, что вопросы и сделанное замечание ни в коем случае не умаляют актуальность и значимость рецензируемой работы и носят в основном дискуссионный характер.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации полностью отвечает требованиям ВАК Минобрнауки России и оформлен в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертационной работы и соответствует ее основным положениям.

Заключение

Диссертационная работа Черепанова Сергея Александровича «ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ HEDGEHOG НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИОМ», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора В.П. Чехонина, является логически завершенной актуальной научно-квалификационной работой, характеризующейся несомненной новизной и практической значимостью, содержащей новое решение актуальной научной задачи по оценке влияния сигнального пути Hedgehog на пролиферацию и

химиорезистентность клеток низкодифференцированных глиом, имеющей существенное значение для биохимии. Основные научные результаты диссертационной работы опубликованы в ведущих научных журналах. Достоверность и обоснованность полученных результатов, сделанных выводов и заключений не вызывает сомнений.

Таким образом, диссертационная работа Черепанова Сергея Александровича соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с поправками Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335 и от 02.08.2016 г. № 748, а ее автор, С. А. Черепанов заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Официальный оппонент:
доктор биологических наук
(03.01.04 - Биохимия),
профессор РАН,
Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,
лаборатория системной биологии, заведующий



Згода В.Г.

«30» май 2019 г.

Згода Виктор Гаврилович
почтовый адрес: 119121, Россия, Москва,
ул. Погодинская, д. 10, стр.8
наименование организации: ФГБНУ
«Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
моб. Тел 89163592656, e-mail vic@ibmh.msk.su

Подпись д.б.н. В.Г. Згоды **заверяю:**
Ученый секретарь ФГБНУ
«Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
к.б.н.



Е.А. Карпова