

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Рыжовой Марины Владимировны на диссертационную работу Куделькиной Веры Владимировны «Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика противоопухолевого эффекта и токсического действия доксорубина в составе PLGA-наночастиц на модели глиобластомы» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### **Актуальность выбранной темы**

Важность, с точки зрения фундаментальной медицины, клеточной биологии и онкологии, изучения новых терапевтических подходов и их токсических эффектов онкологических заболеваний, в частности глиобластомы человека не вызывает сомнения и позволяет расширить представление о биологии опухоли, что позволит улучшить выживаемость пациентов. Несмотря на успехи в терапии многих онкологических заболеваний, глиобластома остается одной из неизлечимых опухолей, стандарт лечения, в подавляющем большинстве случаев, направлен на продление жизни и паллиативную помощь пациентам. Традиционно классификация опухолей головного мозга основывалась на их гистологической оценке, с 2016 г ВОЗ ввела молекулярно-генетический контроль опухолей, что позволяет более точно классифицировать опухоли, прогнозировать и проводить более эффективное лечение, разрабатывать целевые терапевтические средства. Методы, основанные на полимеразной цепной реакции, иммуногистохимические и FISH-исследования давно вошли в рутинную практику врача онколога, современные методы такие как секвенирование нового поколения, секвенирование отдельных клеток, позволяет исследовать новые целевые гены и мишени. Однако несмотря на многообещающий успех доклинических испытаний, клинические испытания нередко терпят неудачу, как на ранних этапах, так и на более поздних.

В целом, актуальность морфологической и иммуногистохимической характеристики терапевтических и токсических воздействий широко известного

антибиотика антрациклинового ряда, обладающего противоопухолевым эффектом – доксорубицина исследуется давно, однако современные научные работы открывают новые механизмы действия доксорубицина, а благодаря накопленным клиническим и научным данным оспариваются старые общепринятые. Также относительно новые формы хорошо известных лекарственных веществ в составе наночастиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) могут иметь отличные от исходного вещества биологические эффекты поэтому нуждаются в детальном изучении их химических и биологических свойств. Автором работы выбрана уникальная модель опухоли глиобластомы перевиваемый тканевой штамм, который по морфологии, клеточному составу, микроокружению, молекулярно-биологическим свойствам отличается от широко известных линейных клеточных моделей, противоопухолевые и токсические эффекты лечения могут отличаться. Вместе с тем, автором диссертационного исследования проведено совместное исследование и терапевтического действия и токсического эффекта новой формы доксорубицина – доксорубицина в составе PLGA, что актуально, т.к. большинство исследователей изучает их отдельно друг от друга, тогда как сам процесс формирования и роста опухоли может вносить существенный вклад в формирование токсичности. Так токсические эффекты лекарственных воздействий изучают на интактных здоровых животных, выбирая большие дозы для верификации изменений.

### **Достоверность и степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснование достоверности результатов исследований подтверждаются методами статистики, сформированные выборки репрезентативны что обеспечивает высокий доказательный уровень исследования.

Работа выполнена с использованием достаточного количества экспериментального материала и на современном методическом и методологическом уровне, обоснованность научных положений, выводов рекомендаций по итогам данной работы не вызывает сомнений. Поставленной цели



исследования соответствуют задачи, для выполнения которых использованы признаваемые научным сообществом методы и подходы в области экспериментальной онкологии, клеточной биологии, гистологии, биохимии, молекулярной биологии. Результаты, полученные в ходе выполнения работы позволяют логически обосновать сформулированные в диссертации положения и выводы. Положения, выносимые на защиту, являются научно обоснованными и представляют значимый интерес для клеточной биологии и фундаментальной медицины. Выводы аргументированы, логичны и соответствуют полученным результатам, которые подвергнуты критическому анализу.

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В ходе выполнения работы были получены важные фундаментальные данные, позволившие сформулировать научные положения, ценность и новизна которых не вызывает сомнений. Исследованы морфологические и иммуногистохимические противоопухолевого эффекты и токсическое действия доксорубицина в составе PLGA-наночастиц на перевиваемой тканевой модели глиобластомы.

На релевантной модели показано, что терапевтические дозы как доксорубицина, так и доксорубицина в составе PLGA-наночастиц оказывают противоопухолевое действие. Противоопухолевая активность доксорубицина обусловлена увеличением числа гибнущих опухолевых клеток и снижением в глиобластоме 101.8 количества кровеносных сосудов, выявляемых изолектином B4, а доксорубицина в составе PLGA наночастиц – снижением Ki67-положительных пролиферирующих клеток опухоли.

Установлено, что более эффективное противоопухолевое действие терапевтических доз доксорубицина в составе PLGA-наночастиц по сравнению с доксорубицином характеризуются увеличением средней продолжительности жизни и выживаемости животных, а также торможением роста опухоли.

По данным морфологического, ультраструктурного и биохимического исследований, показано, что курсовое введение терапевтических доз доксорубина в составе PLGA-наночастиц по сравнению с доксорубицином оказывает менее выраженное токсическое действие на миокард и почки.

Полученные научные выводы и положения, выносимые на защиту, можно оценить как новые и важные для клеточной биологии и фундаментальной медицины.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Исследование является важным как для экспериментальной, так и для клинической онкологии. Результаты работы, полученные на релевантной животной модели глиобластомы, позволяют расширить представления о фундаментальных механизмах противоопухолевого эффекта терапевтических доз доксорубина и его PLGA наноформы. Установлено, что при введении животным с глиобластомой 101.8 терапевтических доз Докс увеличивается число гибнущих опухолевых клеток и снижается количество кровеносных сосудов, окрашенных изолектином В4, а Докс-PLGA – снижается количество пролиферирующих Ki67-положительных клеток опухоли. Терапевтические дозы доксорубина в составе PLGA-наночастиц по сравнению с доксорубицином характеризуется более эффективным противоопухолевым действием – увеличивается средняя продолжительность жизни и выживаемости животных, а также торможением роста опухоли. Кардио- и нефротоксическое действие курсового введения терапевтических доз доксорубина в составе PLGA-наночастиц по сравнению с доксорубицином по результатам морфологического, ультраструктурного, и биохимического исследования менее выражено. Гепатотоксические эффекты обоих лекарственных препаратов слабо выражены и не различаются по степени тяжести.

Полученные в исследовании данные о морфологической и иммуногистохимической характеристике противоопухолевого эффекта и токсического действия терапевтических доз доксорубина и его PLGA-



наноформы на модели глиобластомы следует учитывать при разработке новых подходов к лечению глиобластомы в доклинических и клинических исследованиях.

### **Оформление диссертации и ее содержание**

Диссертация построена по традиционному плану. Работа написана хорошим научным литературным языком, текст изложен на 224 страницах машинописного текста, включающей введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и отдельный раздел, содержащий их всестороннее обсуждение. Рукопись иллюстрирована 43 рисунками и 13 таблицами. Список литературы включает 575 российских и зарубежных источников. Выводы диссертации логично вытекают из текста работы и соответствуют полученным результатам и задачам исследования.

Работа имеет традиционную для кандидатской диссертации структуру, во введении дан необходимый объем обоснования актуальности, представлены цели и задачи, а также положения, которые автор выносит на защиту. В обзоре литературы удобным для читателя образом совмещены как фундаментальные данные из области экспериментальной и клинической онкологии, клеточной биологии, физиологии и гистологии, так и представлен достаточный объем данных, обосновывающих клиническую значимость поставленной в работе проблемы. Подробно изложены современные представления об этиологии, лечении, клеточной биологии и патоморфологии глиобластомы. Существенный объем обзора посвящён механизмам действия доксорубицина, и доксорубицина в составе наночастиц, токсическим эффектам терапии, животным моделям глиобластомы. Отдельного внимания заслуживает тщательность документирования материалов и методов, которые представлены подробнейшим образом, что позволяет предполагать высокую воспроизводимость результатов, представленных в настоящей работе. Результаты представлены текстом, таблицами и рисунками. Автором приведено значительное количество литературных источников, сведения из которых обобщены. Следует отметить, что автор не только объясняет

полученных результаты с позиции поставленной задачи, но и привлекает имеющиеся в этой области знаний.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации и соответствует требованиям п. 25 Положения о присуждении ученых степеней. Принципиальных вопросов и замечаний по содержанию и изложению работы не возникло.

### **Замечания по диссертационной работе и вопросы**

Принципиальных вопросов и замечаний по диссертационной работе Куделькиной В.В. нет.

### **Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати**

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 6 статей в научных рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России. Результаты работы доложены на отечественных и зарубежных конференциях.

### **Заключение**


Диссертационная работа Куделькиной В.В. «Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика противоопухолевого эффекта и токсического действия доксорубина в составе PLGA-наночастиц на модели глиобластомы», выполненная под руководством профессора д.м.н. О.В. Макаровой, является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – на животной модели глиобластомы показано, что по сравнению доксорубином, доксорубин в составе наночастиц из сополимера молочной и гликолевой кислот оказывает более выраженное терапевтическое противоопухолевое действие и уменьшает токсические эффекты лечения. Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии и гистологии, экспериментальной и клинической онкологии, патологической анатомии.



По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Куделькиной В.В. соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в ред. от 26.01.2023), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

**Официальный оппонент:**

Заведующий  
патологоанатомическим отделением -  
врач-патологоанатом  
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии  
им. ак. Н.Н. Бурденко»  
Минздрава России  
доктор медицинских наук

 Рыжова Марина Владимировна

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных \_\_\_\_\_ / Рыжова М.В./

«04» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Подпись д.м.н. Рыжовой М.В. заверяю.

Ученый секретарь  
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии  
им. ак. Н.Н. Бурденко»  
Минздрава России  
кандидат медицинских наук



 Данилов Глеб Валерьевич

Контактная информация: федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125047, г. Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, д. 16, тел: +7 (499) 972-8668, e-mail: info@nsi.ru