«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России)
Академик РАН, профессор
_____ И.С. Стилиди
«08» 06 2020 г.

ОТЗЫВ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, в качестве ведущей организации по диссертации Лукиной Марии Максимовны «Флуоресцентная микроскопия с временным разрешением в изучении метаболизма опухолевых клеток при химиотерапии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — биофизика (биологические науки)

Актуальность темы и связь с планами развития медицинской науки и здравоохранения

Визуализация отдельных молекул и клеточных популяций широко используется для изучения биологических процессов на молекулярном уровне и, в частности, при исследованиях процесса канцерогенеза и прогрессии опухоли. Благодаря развитию новых подходов и созданию высокотехнологичной аппаратуры, визуализация биологических объектов претерпела качественный переход от получения отдельных статических изображений к наблюдению за процессами, происходящими в опухолевой клетке. В настоящее время методы на основе флуоресценции находят

широкое применение в различных областях биологии и медицины. Они начинают использоваться как в фундаментальных медико-биологических исследованиях, так и находят применение в прикладных исследованиях, направленных на совершенствование ранней диагностики заболеваний, персонализации лечения и испытаний новых лекарственных препаратов. Основным преимуществом флуоресцентной диагностики является применимость к живым объектам, поскольку данный метод является неинвазивным, относительно простым и безопасным, обладающим большой информативностью. Наблюдение метаболизма по флуоресценции метаболических кофакторов является особой современной технологией, так как дает информацию о метаболическом статусе живых клеток без дополнительной подготовки, вмешательств и окрашивания образца. Метод флуоресцентной время-разрешенной микроскопии высокочувствителен к биохимическим изменениям в клетках и биологически безопасен, что открывает перспективу его быстрого внедрения в клинические исследования. Прогресс в понимании биохимических различий нормальной и опухолевой клеток, и, в частности, молекулярных основ эффекта Варбурга, активации гликолиза в опухолевых клетках, является теоретической основой применения флуоресцентной время-разрешенной микроскопии в онкологии. Диссертационная работа М.М. Лукиной посвящена изучению метаболизма опухолевых клеток при химиотерапии *in vitro* и *in vivo* с помощью флуоресцентной микроскопии с временным разрешением. Представляет огромный интерес применение этого нового метода не только для экспериментального изучения процессов трансформации клетки, но и особенностей процессов инвазии и метастазирования опухоли, а также мониторинга эффективности противоопухолевой химиотерапии. Таким образом, актуальность диссертационной работы М.М. Лукиной, посвященной анализу возможностей применения флуоресцентной микроскопии с временным разрешением для выявления эффектов

химиотерапевтических препаратов на различных моделях опухолевого роста in vitro и in vivo, не вызывает сомнений.

Оформление и содержание работы

Кандидатская диссертация М.М. Лукиной «Флуоресцентная микроскопия с временным разрешением в изучении метаболизма опухолевых клеток при химиотерапии» представлена одним томом, написана в традиционной форме и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 107 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и иллюстрирована 13 рисунками. Библиография включает 163 литературных источников.

Цель исследования сформулирована корректно и вытекает из современного состояния проблемы, отраженного в обзоре литературы. Поставленные задачи направлены на достижение поставленной цели. Материал изложен логично, ясно и грамотно, хорошо иллюстрирован. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

Метод флуоресцентной микроскопии с временным разрешением на основе распознавания кофакторов НАДН и ФАД начал использоваться лишь в последние годы. В диссертационной работе М.М. Лукиной он впервые применен для оценки метаболического статуса живых опухолевых клеток как монослойных клеточных культур и сфероидов, так и подкожных опухолей экспериментальных животных при химиотерапии препаратами с различными механизмами действия. Впервые описаны закономерности изменения аэробного гликолиза и митохондриального метаболизма при действии химиопрепаратов на опухолевые клетки с помощью современного

высокотехнологичного метода флуоресцентной микроскопии с временным разрешением без применения экзогенных флуоресцентных красителей.

Значимость для науки и практики полученных результатов

В диссертационной работе М.М. Лукиной методом флуоресцентной микроскопии с временным разрешением кофакторов НАДН и ФАД проведена оценка метаболического статуса живых опухолевых клеток для моделей с различной организацией: монослойных клеточных культур, сфероидов и подкожных опухолей экспериментальных животных при химиотерапии препаратами с различными механизмами действия.

Практическое значение результатов работы М.М. Лукиной обусловлено тем, что диссертантом продемонстрирована возможность использования метода флуоресцентной микроскопии с временным разрешением при решении ряда задач, связанных как со скринингом, так и с углубленным изучением механизмов действия химиопрепаратов и особенностей ответа опухоли на лечение, уточнением механизмов опухолевой прогрессии. При условии стандартизации методик флуоресцентный имиджинг метаболических кофакторов НАДН и ФАД может быть крайне полезен для доклинических испытаний новых противоопухолевых агентов, а также персонализированного подбора противоопухолевой терапии.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и сформулированных выводов

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, соблюдены все научно-методические требования, предъявляемые к диссертационным работам по биофизике. В диссертации проведен анализ большого объема данных, полученных с использованием современных

исследовательских методов и технологий, выбор которых адекватен поставленным задачам. Полученные автором данные обработаны с использованием адекватных методов математической статистики. В диссертации в соответствии с поставленными задачами четко сформулированы выводы, которые полностью отражают полученные данные и выявленные закономерности.

Результаты исследования представлены и обсуждены более чем на 15 научных российских и международных конференциях.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты исследования могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций общего курса по биофизике и биомедицине. Кроме того, полученные результаты могут быть включены в методические рекомендации по использованию в клинической и экспериментальной онкологии флуоресцентной микроскопии с временным разрешением на основе распознавания кофакторов НАДН и ФАД.

Замечания по диссертации

Принципиальных замечаний к рецензируемой диссертационной работе нет. Однако имеются замечания по использованию ряда терминов, необоснованному включению в текст работы «англицизмов». Так автор использует термин «антинеопластические» вместо принятого в русскоязычной литературе «противоопухолевые». Автор пишет о «пролиферативной функции клетки», в то время как пролиферация – не является функцией клетки, о блокаторе пируваткиназы – shRNA, в то время как shRNA является блокатором не фермента, а процессинга РНК этого фермента. Кроме того, в тексте диссертационной работы имеются

стилистические и грамматические ошибки. Можно также отметить наличие в тексте работы ряда иллюстраций с подписями на английском языке (рисунок 2, рисунок 4 и т.д.), что является недостатком в оформлении работы. Однако все представленные замечания не снижают научно-практической значимости диссертационной работы М.М. Лукиной.

Заключение

Диссертационная работа М.М. Лукиной на тему: «Флуоресцентная микроскопия с временным разрешением в изучении метаболизма опухолевых клеток при химиотерапии», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — биофизика, является законченной научно-квалификационной работой.

Научные и практические положения работы можно квалифицировать как решение актуальной задачи в области биофизики, а также фундаментальной и клинической онкологии. Методологический подход, научный уровень и объем проведенных исследований соответствуют современным требованиям к диссертационным работам на соискание степени кандидата биологических наук. Научные работы, опубликованные по теме диссертации, и автореферат полностью отражают основные положения диссертационной работы.

Таким образом, по актуальности, объему, уровню проведенных исследований и значимости полученных результатов, диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — биофизика.

Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на заседании отдела химического канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 3 от 19 марта 2020 года).

Заведующий отделом химического канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина», Минздрава России, доктор медицинских наук (по специальности 14.01.12 – онкология)_____ Марианна Геннадиевна Якубовская
подпись

05.06.2020

Подпись М.Г. Якубовской удостоверяю:
Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
к.м.н. _____ Ирина Юрьевна Кубасова
подпись

05.06.2020

Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24
Тел. 8(499)324-11-14, E-mail: kanc@ronc.ru