

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Цидулко Александры Юрьевны «Протеогликаны как прогностические маркеры глиобластомы и их роль в развитии рецидива заболевания», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия, в диссертационный совет Д 001.048.04 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

### **Актуальность темы диссертационной работы.**

Лечение глиобластомы по-прежнему остается малоэффективным: медиана выживаемости пациентов с глиобластомой составляет 4 месяца без лечения и 15 месяцев при использовании общепринятой схемы лечения. Поскольку глиомы часто выявляют у пациентов трудоспособного возраста (до 65 лет) обоих полов, раннее выявление и эффективное лечение этого заболевания крайне актуально для социально-экономического развития РФ. Работа Цидулко А.Ю. посвящена исследованию протеогликанов и глюкозаминогликанов в опухолевой и окружающей ткани глиом различной степени злокачественности. В настоящее время уже показано, что протеогликаны участвуют в формировании структуры внеклеточного матрикса (ВКМ), осуществляют регуляцию сигнальных путей, важны для адгезии клеток к белкам ВКМ и их миграцию и пролиферацию. Таким образом, комплексное изучение протеогликанов в развитии глиобластом высоко актуально.

### **Научная новизна и практическая значимость полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации**

В работе Цидулко А.Ю. что впервые проведено исследование внеклеточных гликозилированных компонентов ткани головного мозга в качестве потенциальных прогностических биомаркеров развития рецидива глиобластомы. Анализ полученных результатов позволил автору сформировать оригинальную панель принципиально новых маркеров, включающую декорин, NG2/CSPG4, перлекан и гепарансульфат. Использование предлагаемой панели маркеров поможет оптимизировать выбор лечебной стратегии для пациентов с глиобластомой. Впервые изучено негативное влияние препаратов, применяемых для лечения глиобластомы в клинике, связанное с

нарушением состава и локализации протеогликанов и гликозаминогликанов ткани головного мозга.

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

Степень обоснованности научных положений и выводов базируется на обширном экспериментальном материале, полученном Цидулко А.Ю. и статистическом анализе полученных данных. Дизайн экспериментов отвечал поставленным задачам и позволил сформулировать выводы и обобщения, в том числе предложить новую панель гликозилированных прогностических биомаркеров (перлекан, декорин, CSPG4/NG2 и ГС) для дополнительной диагностики глиобластомы. Александра продемонстрировала хорошее владение современными теоретическими представлениями о роли протеогликанов во внеклеточном матриксе при глиобластомах.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Структура диссертации соответствует традиционной схеме. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, а также собственных результатов, полученных автором, их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 116 страницах машинописного текста, включает 33 рисунка и 2 таблицы. Список цитируемой литературы содержит 249 источников.

Во «Введении» Александра Юрьевна приводит доказательства актуальности исследуемой проблемы, освещает спорные моменты, требующие решения и обозначает основные цели и задачи своего исследования.

В разделе «Обзор литературы», посвященном роли отдельных компонентов внеклеточного матрикса в опухолевой прогрессии Александра Юрьевна отражает современные представления о канонических и неканонических функциях отдельных протеогликанов и гликозаминогликанов мозга в норме и при онкологических патологиях. Обзор достаточно хорошо иллюстрирован, и большинство цитируемых источников – это публикации последних десяти лет.

В разделе «Материалы и методы исследования» автор придерживается классического стиля, описывая отдельно материалы, исследуемые образцы пациентов и методы исследования.

Раздел «Результаты исследований» обоснованно разбит на подглавы, хорошо иллюстрирован и позволяет легко ориентироваться в представляемом экспериментальном материале. Результаты подтверждают обоснованность выводов.

В разделе «Обсуждение результатов» Цидулко А.Ю. всесторонне обсуждает полученные результаты, их соответствие выдвигаемым идеям, их согласованность с данными, полученными другими учеными, работающими в близкой области.

Итоги работы четко суммируются в заключении и выводах.

В целом, диссертационная производит исключительно положительное впечатление. Работа выполнена на высоком экспериментальном уровне с применением методов статистической обработки. Особенно хочется отметить высокий экспериментальный уровень подготовки гистологических образцов, благодаря чему выводы, сделанные по этому экспериментальному материалу, не вызывают сомнений. Безусловным достоинством работы можно считать применение модели органотипических срезов *ex vivo*, представляющей собой полноценную 3D культуру и содержащей различные клетки нормальной ткани головного мозга, а также ВКМ естественного состава. Большинство представленных результатов опубликованы в высокорейтинговых журналах.

В качестве замечаний к работе можно привести неклассическое название клеточной линии U87 вместо U-87 MG. Дискомфорт при чтении работы создает путаница в терминах, когда термин «экспрессия протеогликанов» употребляется и для оценки экспрессии мРНК корового белка определенного протеогликана (Например, Положение №2 – изменение уровня мРНК индивидуальных протеогликанов), и при описании белкового продукта. На рис. 15Б шкала «у» представлена в % относительно позитивных клеток, а сверху над столбиками данные приведены в долях. При исследовании набора из 12-ти анализируемых генов лучше брать дополнительный, помимо GAPDH, нормировочный ген, вследствие различной базовой экспрессии генов из основного набора.

Однако хотелось бы услышать ответы на некоторые вопросы, возникшие при чтении диссертации:

- 1) В описании результатов эксперимента по анализу экспрессии генов коровых белков протеогликанов можно было еще раз указать, сколько образцов каждого заболевания было взято в анализ, в том числе контрольных образцов, несмотря на то, что основная таблица с характеристиками образцов

присутствует в разделе “Материалы и методы”. В П. 3.1.2. нет критериев и описания того, как формировались группы, что считалось “низкой”, а что “высокой” экспрессией генов анализируемых белков.

- 2) Клеточная линия U-87MG классическая клеточная модель глиобластомы, а темозоломид, как правило, основной препарат сравнения в экспериментах по оценке эффективности действия новых препаратов. Должны существовать стандартизованные данные по значениям IC50 для темозоломида на U-87MG. Как ваши данные по IC50 соответствуют литературным?
- 3) В экспериментах по оценке влияния темозоломида на пролиферацию Александра Юрьевна указывает, что скорость пролиферации была оценена как наклон прямой, полученный при аппроксимации полученных точек. На рис. 18 ось “у” также подписана “наклон линейной части кривой роста” с диапазоном значений от 0 до 4. Обычно наклон измеряют в градусах, в каких единицах здесь был измерен наклон? Более того, доступны базы данных с данными полнотранскриптомного анализа для клеток U87MG под действием темозоломида. Как ваши данные сочетаются с данными, описанными в литературе?

Сделанные замечания имеют дискуссионный характер и не умаляют научной ценности полученных данных и сделанных выводов, и не снижают общего очень хорошего впечатления от диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа А.Ю. Цидулко «Протеогликаны как прогностические маркеры глиобластомы и их роль в развитии рецидива заболевания» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук Григорьевой Эльвиры Витальевны. По актуальности проблемы, объёму и методическому уровню проведённых исследований, достоверности, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная работа полностью отвечает современным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п.9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 02 августа

2016 года №748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

### **Официальный оппонент**

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаб. Биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (ИХБФМ СО РАН)

Коваль Ольга Александровна

Адрес организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук

Адрес: 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8

[www.niboch.nsc.ru](http://www.niboch.nsc.ru), e-mail: [o.koval@niboch.nsc.ru](mailto:o.koval@niboch.nsc.ru), тел.: 8(913)914-4523

Подпись к.б.н. Коваль О.А. з



арь ИХБФМ СО РАН  
еских наук