

«УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Институт молекулярной
патологии и патоморфологии»
доктор биологических наук, профессор
Лушниковая Елена Леонидовна



« 27 » сентября 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт молекулярной патологии и патоморфологии» – о научно-практической значимости диссертации Трифоновой Кристины Эдуардовны на тему «Особенности распределения штамма мезенхимальных стволовых клеток в условиях опухолевого роста после сингенной трансплантации мышам линии C57BL/6», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (биологические науки)

Актуальность темы. Диссертационная работа Трифоновой К.Э. посвящена актуальной проблеме – исследованию особенностей распределения штамма мезенхимальных стволовых клеток, используемого для доставки противоопухолевых препаратов, после внутривенной трансплантации в условиях опухолевого роста. Успешное развитие клеточных технологий и биотехнологий, используемых в области противоопухолевой терапии, невозможно без изучения миграции и распределения трансплантированных клеток. В последние годы растет число публикаций, посвященных применению мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для противоопухолевой терапии, которые обладают высоким пролиферативным потенциалом, фибробластоподобной морфологией, легко индуцируемой дифференцировкой, высокой способностью к адгезии. На характер распределения МСК после трансплантации влияет целый комплекс факторов, в том числе тканевая принадлежность введенных клеток, способ введения клеток, тип трансплантированных клеток и их микроокружение, наличие или отсутствие патологии.

Применение МСК для доставки противоопухолевых препаратов основано на гипотезе о том, что в условиях канцерогенеза стволовые клетки ми-

грируют преимущественно в опухолевую ткань. Но данные последних лет свидетельствуют о том, что трансплантированные МСК обнаруживаются не только в опухолевой ткани, но и в других тканях и органах (печень, селезенка, головной мозг и т.п.). Поэтому исследование Трифоновой К.Э., посвященное выявлению особенностей распределения штамма МСК в условиях опухолевого роста, крайне актуально и своевременно.

Научная новизна исследования и полученных результатов. Исследование Трифоновой К.Э. направлено на получение новых знаний о распределении штамма МСК, используемого для доставки противоопухолевых препаратов, после внутривенной трансплантации в условиях опухолевого роста.

Автором впервые получен штамм МСК костного мозга мышей линии С₅₇BL/6, который обладает стабильными свойствами, безопасен и перспективен для проведения фундаментальных научных исследований и доклинической оценки мезенхимальных стволовых клеток в качестве средства доставки противоопухолевых препаратов.

Автором впервые установлено, что опухолевые клетки меланомы В16-F10 стимулируют миграционную активность МСК костного мозга в системе *in vitro*. В свою очередь, показано, что в условиях совместного культивирования с опухолевыми клетками меланомы В16-F10 стволовые клетки костного мозга мышей не влияют на пролиферацию опухолевых клеток. Доказано, что внутривенное введение сингенных МСК через 3 сут после прививки меланомы В16-F10 не оказывает влияния на опухолевый рост и на выживаемость животных – носителей опухоли.

В диссертационной работе впервые продемонстрированы различия в распределении МСК после внутривенной трансплантации в организме интактных мышей и мышей с привитой меланомой В16-F10. Показано, что на поздних стадиях исследования (7 и 14 сут после введения МСК) основное количество стволовых клеток обнаружено в костном мозге мышей-носителей меланомы В16-F10, тогда как в костном мозге интактных животных детектированы единичные клетки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные о распределении штамма МСК после внутривенной трансплантации в условиях опухолевого роста на модели меланомы В16-F10 вносят значимый вклад в изучение миграционной активности МСК в условиях опухолевого роста и создание теоретической основы для разработки таргетной терапии при развитии злокачественных новообразований.

Практическая ценность работы состоит в том, что получен и заложен

на хранение в коллекцию культур клеток ФБУН Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» штамм мезенхимальных стволовых клеток костного мозга мышей линии *C₅₇BL/6*. Полученный штамм охарактеризован в соответствии с требованиями к диплоидным и перевиваемым культурам клеток. Разработана стандартная операционная процедура «Выделение мезенхимальных стволовых клеток костного мозга мышей линии *C₅₇BL/6*», которая внедрена в работу отдела клеточных технологий ФБУН Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор».

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО Новосибирского государственного педагогического университета Минобрнауки РФ (Новосибирск).

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов. Достоверность полученных результатов обеспечена применением современной научно-методической базы, использованием высокотехнологичных методов (полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, проточной цитометрии, конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, флуоресцентной микроскопии).

Теоретические положения основаны на анализе достаточного количества аспирантов костного мозга бедренных и большеберцовых костей для выделения МСК костного мозга мышей линии *C₅₇BL/6*; изучении распределения МСК у 32 мышей-носителей опухоли и здоровых мышей; оценки выживаемости после трансплантации меланомы B16-F10 20 мышам-самкам линии *C₅₇BL/6*.

При статистической обработке данных выбраны верные критерии оценки, полученные данные проверены с использованием критерия Колмогорова-Смирнова, теста Манна-Уитни, что подтверждает достоверность представленных результатов.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом. Диссертация имеет классическую структуру и состоит из четырех глав: «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», «Результаты исследований» и «Обсуждение результатов исследования», а также введения, заключения, выводов, списка сокращений и списка используемой литературы, включающего 141 источник. Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы исследования, формулирует цель и задачи работы, показывает научную новизну и практическую значимость исследования, формулирует

положения, выносимые на защиту. В главе «Обзор литературы» проанализированы и обобщены литературные данные о свойствах и функции МСК костного мозга, их миграционной активности и распределении после трансплантации, представлены современные данные о влиянии МСК на опухолевый рост (принципы регуляции) и методах противоопухолевой терапии с применением стволовых клеток. В заключении к обзору литературы подчеркивается необходимость изучения влияния трансплантации МСК на кинетику неопластического роста опухоли и продолжительность жизни животных-носителей опухоли.

В главе «Материал и методы исследования» подробно описаны методики выделения, культивирования, индукции адипогенной и остеогенной дифференцировки, иммунофенотипирования МСК, представлены схема эксперимента и современные методы и методики решения поставленных диссертантом задач.

В разделе «Результаты исследований» последовательно описаны полученные данные с применением адекватного статистического анализа. Данный раздел иллюстрирован 20 многокомпонентными рисунками, включающими микрофотографии хорошего качества и диаграммы. В главе «Обсуждение результатов» диссертант проводит сравнительный анализ публикаций и собственных результатов, логично подводя рассуждение к сформулированным выводам. Работа написана терминологически правильно построенным научным языком, не вызывающим затруднений при прочтении.

Выводы и рекомендации, сделанные в диссертационной работе, соответствуют поставленным целям и задачам, обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Результаты апробированы на научно-практических конференциях и опубликованы в 11 печатных работах, из них 2 статьи – в научных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК для публикации результатов диссертационных исследований. Результаты апробированы на российских и международных научно-практических конференциях, конгрессах и симпозиумах.

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

Заключение. Кандидатская диссертация Трифионовой Кристины Эдуардовны «Особенности распределения штамма мезенхимальных стволовых клеток в условиях опухолевого роста после сингенной трансплантации мышам линии C57BL/6», выполненная под руководством к.м.н. Нечаевой Е.А. и д.м.н. Повещенко А.Ф., является законченной научно-квалификационной ра-

ботой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для биологии (биотехнологии) – получен и охарактеризован штамм мезенхимальных стволовых клеток костного мозга мышей линии $C_{57}BL/6$ и изучены особенности его распределения в условиях опухолевого роста после сингенной трансплантации мышам линии $C_{57}BL/6$. Полученные данные имеют важное значение для разработки таргетной терапии, основанной на использовании мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для доставки противоопухолевых препаратов.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов в рецензируемых печатных научных изданиях работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждения ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автору Трифоновой Кристине Эдуардовне следует присудить ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (биологические науки).

Отзыв о научно-практической значимости диссертационного исследования К.Э.Трифоновой обсужден на Ученом совете ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии» (протокол № 1 от 26 января 2016 г.)

Заведующая лабораторией
молекулярных механизмов патологических процессов
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения
«Институт молекулярной патологии
и патоморфологии»
доктор биологических наук,
профессор



Молодых Ольга Павловна

Адрес учреждения: 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2
тел. 8(383) 334-80-03
pathol@inbox.ru
<http://pathomorphology.ru/>

« 27 » января 2016 г.