

«УТВЕРЖДАЮ»

Проект по научной работе  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.  
Пирогова Минздрава России,  
доктор биологических наук,  
профессор РАН

Д.В. Ребриков

«10» мая 2021 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Альзейбак Разан «Механизмы гибели опухолевых клеток при действии фотосенсибилизаторов разной природы на примере фотосенса и фотодитазина», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

### Актуальность темы исследования

Использование соединений со свойствами фотосенсибилизаторов (ФС) вошло в медицинскую практику еще во второй половине прошлого века и к настоящему времени развилось в один из признанных методов лечения онкологических заболеваний. Фотодинамическая терапия (ФДТ) основана на фотохимической генерации активных форм кислорода в реакции с участием фотосенсибилизатора и последующей активации в клетке процессов, приводящих, в итоге, к её смерти. Несомненным преимуществом ФДТ является низкая системная токсичность и локальность действия фотосенсибилизаторов, достигаемая вследствие использования избирательного облучения светом только области опухоли. Несмотря на долгую историю развития метода, до настоящего времени отсутствует единая картина молекулярных процессов, запускаемых в клетке при фотодинамическом воздействии. В то же время необходимо признать, что понимание механизмов ответа опухолевых клеток на данный тип воздействия является необходимым условием для рационального дизайна ФС нового поколения с заданным набором биологических свойств.

Таким образом, диссертационная работа Альзейбак Р., посвященная изучению механизмов гибели опухолевых клеток при действии ФС разной природы, является

несомненно актуальной, а ее результаты имеют фундаментальное и практическое значение.

### **Научная новизна**

Выполненное исследование обладает существенной научной новизной. Так, диссертантом впервые продемонстрирована возможность индукции смешанного типа клеточной смерти, демонстрирующего черты апоптоза и ферроптоза, при фотодинамическом воздействии с гидрофильным ФС. В случае амфифильного мембранотропного ФС показано сочетание черт некроптоза и апоптоза.

На основании анализа полученных экспериментальных данных диссертантом сформулирована гипотеза о том, что внутриклеточная локализация ФС является одним из ключевых факторов, определяющих тип индуцируемой клеточной смерти, и впервые предложена общая схема, объясняющая сочетание возможных механизмов, лежащих в основе такого влияния.

### **Практическая значимость**

Раскрытие сути процессов, индуцируемых в опухолевой клетке при фотодинамическом воздействии, осуществленное диссертантом, дает возможность целенаправленно управлять такими процессами и, таким, образом, достигать наибольшей терапевтической эффективности при проведении ФДТ. К настоящему времени установлено, что злокачественная трансформация часто сопровождается нарушением работы регуляторного аппарата клетки, ответственного за запуск апоптоза. В таком случае устойчивость опухоли к терапии может быть преодолена путем подбора ФС, механизм действия которых задействует иные виды регулируемой клеточной смерти. Принципиальная возможность такого подбора продемонстрирована в работе.

### **Связь темы с планами соответствующей отрасли науки**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

### **Соответствие представленной работы специальности**

Диссертационная работа Альзеибак Разан «Механизмы гибели опухолевых клеток при действии фотосенсибилизаторов разной природы на примере фотосенса и фотодитазина» соответствует научной специальности 03.01.02 – биофизика, в том числе областям исследования «биофизика клетки» и «медицинская биофизика».

## **Публикации**

Теоретические и экспериментальные результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, отражены в 12 печатных работах, в том числе в шести научных статьях в изданиях, индексируемых WoS и/или Scopus.

Содержание опубликованных работ в полной мере отражает основные положения диссертации.

### **Анализ содержания диссертации**

Диссертационная работа построена классически, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитированной литературы, включающего 215 ссылок. Работа изложена на 114 страницах, содержит 28 рисунков и 3 таблицы.

Во введении автором убедительно обоснована актуальность проблемы, решению которой посвящена диссертационная работа.

В обзоре литературы обобщены и проанализированы представленные в научной литературе данные о механизмах ответа клеток на фотодинамическое воздействие, от первичных фотофизических процессов до реализации различных путей клеточной гибели. Проведенный теоретический анализ обозначает имеющиеся основные пробелы в современных представлениях, а также выделяет вопросы, в отношении которых в настоящее время имеются противоречивые точки зрения. Проведенный анализ позволил диссидентанту обоснованно сформулировать цель и задачи диссертационного исследования.

Используемые в работе методические подходы адекватны поставленным задачам исследования. Детальное описание протоколов исследований и использованных материалов позволяет воспроизвести все проведенные эксперименты. Несомненным достоинством работы является широкий спектр использованных современных методов исследования, позволяющих в совокупности говорить о надежности результатов, а также обоснованности сделанных выводов.

Глава «Результаты и их обсуждение» включает четыре подраздела, в которых изложены полученные диссидентантом экспериментальные данные, приведено объяснение их взаимосвязи, сформулированы и обоснованы ответы на поставленные задачи диссертационного исследования. Для опухолевых клеток разного происхождения показаны особенности внутриклеточного распределения двух соединений-ФС: в соответствии с физико-химическими свойствами основным местом их локализации являлись либо лизосомы (в случае *фотосенса*), либо внутриклеточные мембранны (в случае *фотодитазина*). Определены количественные показатели фотодинамической активности данных соединений в отношении ряда опухолевых клеточных линий.

Необходимо особо выделить результаты представлены в последнем подразделе. Автором показано, что фотодинамическое воздействие может инициировать в клетке принципиально разные последовательности событий, ведущие к различным типам клеточной смерти. В силу исторически обусловленного развития представлений о клеточной гибели до недавнего времени смерть клетки при фотодинамическом воздействии рассматривалась преимущественно в рамках выбора «некроз – апоптоз», а сам выбор клетки считался определяемым интенсивностью воздействия. На основании полученных данных диссертантом впервые сформулировано предположение о том, что фотодинамическое воздействие может вызывать принципиально различающиеся между собой типы регулируемой клеточной смерти, в том числе апоптоз, некроптоз и ферроптоз.

Интерпретация полученных экспериментальных результатов проведена в главе «Заключение». Несомненным достоинством данного раздела работы является наличие обобщающей гипотетической схемы, в которой диссертантом непротиворечиво объединены предполагаемые конкурирующие молекулярные механизмы, лежащие в основе наблюдаемых клеточных ответов на фотодинамическое воздействие.

Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным цели и задачам, корректны, адекватны полученным результатами и не вызывают сомнений. Материалы диссертационной работы опубликованы и апробированы на ряде конференций.

**Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.**

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

Выполненные диссертантом исследования имеют важное фундаментальное, а в перспективе и прикладное, значения. Важным результатом с точки зрения фундаментальной науки представляется расширение представлений о механизмах ответа клеток на фотодинамическое воздействие и факторах, определяющих судьбу клетки.

Последний аспект имеет в перспективе и прикладное значение, поскольку полученные новые знания могут быть применены при разработке новых ФС, а также схем и режимов терапии онкологических заболеваний.

Не вызывает сомнений, что результаты рецензируемой работы могут быть использованы в учебном процессе в высших учебных заведениях при подготовке студентов, обучающихся по биологическим и медицинским специальностям.

#### **Вопросы и замечания по диссертации**

В качестве замечаний, носящих во многом дискуссионный характер, необходимо отметить следующие:

1. Научно-популярная, в ряде случаев, терминология. В частности, термин «рак» лучше заменить, там, где это возможно, на «онкология» или «онкологические заболевания».

2. На стр. 4 автореферата упоминается «схема, объясняющая взаимосвязь между фотохимическими свойствами ФС и потенциальными видами индуцируемой ими клеточной смерти». На наш взгляд использование словосочетание «объясняющая взаимосвязь» чрезмерно прямолинейно. Полученные диссертантом данные, безусловно, позволяют сделать на данном этапе лишь, хоть и вполне обоснованное, но пока только предположение. Это открывает новую область для дальнейших работ по систематизации и обобщению полученных результатов. Отметим также, что сама схема (рис. 17), безусловно – красивая, но очень плохо читаема.
3. Представляется необходимым на стр. 5 автореферата конкретизировать круг ВУЗов, которые могли бы использовать полученные данные в учебном процессе. К их числу можно смело отнести и РНИМУ им. Н.И. Пирогова.
4. Имеются незначительные опечатки, повторы, жаргонизмы (сжимание, ошаривание и др.), например, «... в присутствии в среде йодида пропидиума...» (стр. 7), не удачные, на наш взгляд, словосочетания, например, «...слабая полоса Q-полоса поглощения на длине волны...» (стр. 8). Сокращения лучше приводить в одном стиле, в данном случае: DMSO вместо ДМСО (стр. 14). Не понятно, с какой целью авторы дают расшифровку общепринятых сокращений, в частности – FRET (на стр. 16).
5. Подписи к некоторым рисункам, в частности, Рис.2 (стр. 9), представляются малоинформативными, было бы целесообразно указать также марку прибора, на котором проводилось исследование, а также условия регистрации спектров.
6. При обсуждении результатов инкубации клеток с ФС в темноте (стр. 10 автореферата), авторы отмечают «негативное действие соединений только при ...», при этом не приводят критерии такого «негативного действия».
7. На стр. 11 рассматриваются морфологические особенности фотосенсибилизованных клеток и скорость permeabilизации клеточной мембранны. Упоминается о серии серий экспериментов по мониторингу permeabilизации мембранны после краткосрочного воздействия. Здесь представляется целесообразным указать параметры такого воздействия.
8. На стр. 14 отмечается «... отсутствие защитного эффекта ловушки липидных радикалов Fent-1 или хелаторов железа... » в случае фотодитазина и, на стр. 19, «... ловушка липидных радикалов ферростатин-1 защищал клетки от фотодинамического действия фотосенса...». В этой связи интересно мнение авторов о связи свободнорадикального механизма клеточной смерти от природы используемого ФС.

Вместе с тем еще раз отметим, что высказанные выше замечания не носят принципиального характера и не снижают научной значимости работы.

## Заключение

Диссертационная работа Альзибак Розан «Механизмы гибели опухолевых клеток при действии фотосенсибилизаторов разной природы на примере фотосенса и фотодитазина», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне и представляющей результаты, обладающей несомненной научной новизной.

По своей актуальности, объему проведенных экспериментальных исследований и значимости полученных результатов диссертация полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на расширенном заседании Центра GLP исследований и отдела медицинской химии и токсикологии НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 14 от 9 июня 2021 года).

**Негребецкий Вадим Витальевич**

Руководитель Центра GLP исследований,

Зав. отделом медицинской химии и токсикологии,

Зав. кафедрой химии лечебного факультета,

Д.х.н., профессор РАН, лауреат государственной премии РФ

/Негребецкий В.В./

«10 » июня, 2021 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Почтовый адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1

Телефон: +7 (495) 434-03-29, +7 (495) 434-61-29

e-mail: rsmu@rsmu.ru

