

В диссертационный совет ПДС 0300.025  
при Федеральном государственном автономном  
образовательном учреждении высшего образования  
«Российский университет дружбы народов  
имени Патриса Лумумбы»  
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

### **ОТЗЫВ**

официального оппонента, д.м.н., профессора, члена-корреспондента  
Академии Наук Республики Татарстан, зав. кафедрой общей патологии,  
декана медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский  
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
Бойчука Сергея Васильевича  
на диссертационную работу Петровой Альбины Сергеевны  
«Механизмы гибели опухолевых клеток  
при фотоактивации новых производных хлорина»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

#### **Актуальность темы исследования**

Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований выгодно отличается от традиционных методов лечения избирательностью поражения опухолей, возможностью проведения многокурсового и амбулаторного лечения, а также отсутствием токсических реакций, иммунодепрессивного действия, местных и системных осложнений. Одним из перспективных направлений фотодинамической терапии является поиск новых эффективных фотосенсибилизаторов, которые активируются глубоко проникающим в ткани светом в длинноволновой красной области спектра ( $\lambda=650-680$  нм), избирательно накапливаются в опухолевой ткани и быстро выводятся из организма. Поэтому диссертация Петровой А.С., посвященная изучению механизмов гибели опухолевых клеток при фотоактивации новых производных хлорина и, в частности, перспективного фотосенсибилизатора фторборхлорина, несомненно, является актуальной.

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

Автор впервые исследовала темновое действие фторборхлорина на опухолевые клетки различного тканевого происхождения, в том числе, на клетки резистентные к действию противоопухолевых препаратов. Впервые получены данные о низкой темновой цитотоксичности фторборхлорина на трех клеточных линиях аденокарцином толстой кишки, молочной железы и яичника, и каждая родительская линия исследована в сравнении с сублиниями, резистентными к тем или иным химиопрепаратам. Показано, что темновая токсичность фторборхлорина на неопухолевых фибробластах человека также низкая.

Исследовано внутриклеточное накопление опухолевыми клетками фторборхлорина и его структурных предшественников - фторхлорина и борхлорина. Автор проанализировала связь между интенсивностью накопления соединений клетками и структурой соединений. Появление в структуре хлорина как фтора, так и бора усиливает способность фторборхлорина накапливаться в опухолевых клетках. Важным результатом работы является установление того факта, что скорость накопления фторборхлорина в резистентных к цисплатину клетках аденокарциномы яичника превышает скорость его накопления в родительских клетках. Низкая темновая и микромолярная фотоиндуцированная цитотоксичность в данном случае обуславливает перспективность применения исследованного соединения как фотосенсибилизатора в случае резистентности к химиотерапии, когда актуально применение именно фотодинамической терапии (ФДТ).

Фторборхлорин и использованные в работе контрольные соединения охарактеризованы как перспективные фотосенсибилизаторы по фосфоресценции синглетного кислорода. Это обуславливает возникновение быстрого фотонекроза после возбуждения светом клеток, накопивших фторборхлорин и его структурные предшественники. Поскольку атомы фтора

и борные кластеры не существенно влияют на величину эффективности генерации активных форм кислорода хлорином, ключевой акцент в работе сделан на возможность фотоэлиминации резистентных к химиотерапии клеток.

Автором показано, что развитие лекарственной устойчивости клеток аденокарциномы яичника к цисплатину сопровождалось усилением экспрессии генов, кодирующих ключевые антиоксидантные ферменты (SOD2, CAT, GPX1 и HO-1) и гена транскрипционного фактора Nrf2, контролирующего их экспрессию. Преодоление такой устойчивости при действии фотосенсибилизатора логично и эффективно. В микромолярных концентрациях фторборхлорин вызывает быстрый фотоиндуцированный некроз клеток, подтвержденный окрашиванием маркером некроза пропидием йодидом. Это важный результат с точки зрения наличия широкого «терапевтического окна» между темновым и фотоиндуцированным действием фотосенсибилизатора.

Логичен переход автора к исследованиям *in vivo*, по результатам которых показано, что в переносимых дозах фторборхлорин вызывает регрессию очага меланомы. Полная регрессия опухоли происходила не только за счет фотодинамического или борнейтронзахватного действия фторборхлорина, а путем сочетания этих методов. Методологически корректно проведено сравнение отдельных эффектов и комбинированного воздействия, поскольку возможность применения этих двух методов заложена в структуре фторборхлорина. Автором обосновано, что фторборхлорин может быть как фото- так радиосенсибилизатором, что важно с точки зрения исследований и проектов по комбинированной терапии для преодоления лекарственной устойчивости.

Автор использовала широкий набор современных экспериментальных методов биохимии и молекулярной онкологии, а также фотохимии. Эксперименты логичны и имеют все необходимые контроли. Статистическая обработка данных корректна, использованные объемы выборок достаточно

высокие. Выводы диссертационного исследования соответствуют поставленным задачам, логичны и обоснованы.

### **Ценность для науки и практики результатов работы**

В диссертационной работе Петровой А.С. на основании экспериментальных исследований нового производного хлорина установлена высокая противоопухолевая эффективность фторборхлорина при ФДТ в культуре клеток и эффективность использования фторборхлорина при сочетанном действии фотодинамической и борнейтронозахватной терапии, которое приводит к высокому противомеланомному результату. Таким образом, в диссертации Петровой А.С. показана перспективность фторборхлорина для углубленного биологического и клинического изучения.

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

Диссертантом сформулированы 5 основополагающих положений, выносимых на защиту и соответствующих 5 выводам из результатов выполненного исследования. Выводы полностью следуют из результатов работы и свидетельствуют о выполнении поставленных в ней целей и задач. Достоверность полученных результатов и, соответственно, обоснованность научных положений, заключений и выводов не вызывает сомнений.

Сопоставление данных, полученных на разных культурах клеток, постановка нескольких параллельных экспериментов (в том числе и при использовании животных), грамотный выбор контролей и соответствующая статистическая обработка подтверждают достоверность и надежность результатов работы. Обоснования экспериментальных подходов и обсуждение полученных результатов лишены спекулятивности, выполнены четко и по делу.

## **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По теме диссертации опубликованы 11 научных печатных работ, среди которых 5 статей в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, и тезисы 6 докладов. Все основные результаты, представленные в диссертации, отражены в опубликованных работах.

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Диссертация построена по общепринятой схеме, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы с описанием полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 181 источник. Диссертация иллюстрирована 26 рисунками и 3 таблицами.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию и основным положениям диссертации.

## **Замечания по работе**

1. «После освещения клеток, накопивших фторборхлорин в течение 24 часов, белым светом в течение 20 минут наблюдается гибель, о чем свидетельствует нарастание свечения погибших клеток. Непосредственно после окончания освещения клеток, нагруженных фторборхлорином, йодид пропидия – маркер некроза окрашивает ядра. Данный механизм работает для опухолевых клеток, как чувствительных, так и устойчивых к известным противоопухолевым препаратам – доксорубицину и цисплатину». Оценивалась ли токсичность фторборхлорина на опухолевые клетки во флуоресцентной микроскопии?
2. Что подразумевается под «лекарственной формой ФБХ»?

## Заключение

Диссертационное исследование Петровой Альбины Сергеевны «Механизмы гибели опухолевых клеток при фотоактивации новых производных хлорина» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи по изучению механизма действия нового фотосенсибилизатора, имеющей важное значение как для фундаментальной, так и прикладной биохимии, и онкологии.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № 12 от 23.09.2019 г., а её автор, Петрова Альбина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой общей патологии

ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России

д.м.н., (14.00.16 – патологическая физиология,

14.00.36 – аллергология и иммунология), профессор,

член-корреспондент Академии Наук Республики Татарстан

(молекулярная онкология)

Бойчук Сергей Васильевич

Подпись д.м.н., профессора Бойчука С.В. «заверяю»

Ученый секретарь

ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России

д.м.н., профессор

Мустафин Ильшат Ганиевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 420012, г. Казань, Бултерова, д. 49Б, тел. 8-843-236-06-52,

e-mail: [sergeiboichuk@kazangmu.ru](mailto:sergeiboichuk@kazangmu.ru) , <https://www.kazangmu.ru>