

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Бирюкова Михаила Михайловича

на тему «Молекулярные каскады, определяющие селективность цитотоксического действия холодной плазмы атмосферного давления в отношении опухолевых клеток»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
1.5.4 – биохимия.

Актуальность темы

За последние десятилетия достигнут значительный прогресс в разработке и внедрении новых химио- и иммунопрепаратов для лечения онкологических заболеваний. Тем не менее, ответ опухоли на эти препараты может быть лимитирован вследствие развития лекарственной устойчивости или в результате иммунотолерантности отдельных органов. Поэтому разработка новых лекарств и подходов к терапии онкологических патологий остается крайне актуальной задачей. Такими новыми подходами могут стать физические или физико-химические методы, использующие современные приборы, такие как бор-нейтронозахватная терапия, брахиотерапия, фотодинамическая терапия, а в последние годы и терапия холодной плазмой. Поэтому, диссертационная работа Бирюкова Михаила Михайловича, посвященная изучению молекулярных механизмов противоопухолевого действия и селективности холодной плазменной струи (ХПС), решает актуальные задачи молекулярной биологии для медицины.

Несмотря на большое количество международных работ по исследованию процессов, происходящих в раковых клетках после воздействия ХПС, существовала потребность в комплексных сравнениях реакций на обработку ХПС и на здоровых клетках. Работа Бирюкова М.М. выявляет основные молекулярные особенности взаимодействия холодной плазмы с опухолевыми и здоровыми клетками человека, отвечая на вопрос о механизмах селективной индукции гибели опухолевых клеток.

Целью работы Бирюкова М.М. было выявление ключевых молекулярных каскадов, определяющих селективность цитотоксического действия холодной плазмы в отношении опухолевых клеток. Для достижения поставленной цели были проведены эксперименты как на клеточных культурах, так на мышинной модели. Исследовано накопление вне- и внутриклеточных активных форм кислорода и азота (АФКА), подробно исследованы молекулярные механизмы ответа опухолевых и нормальных клеток на обработку ХПС, в том числе с учетом данных полнотранскриптомных исследований.

В работе Михаила Михайловича впервые показано, что селективность ХПС в выбранной модели обусловлена индукцией стресса эндоплазматического ретикулума в опухолевых клетках, а также продемонстрирована взаимосвязь между инициацией аутофагии и апоптоза в обработанных клетках. Научная новизна результатов диссертационного исследования не вызывает сомнений. Полученные результаты могут быть использованы для подбора препаратов-партнеров таргетной и химиотерапии для использования в комбинации с ХПС, а также для модернизации плазма-генерирующих устройств для медицинского применения.

Диссертация Бирюкова М.М. имеет классическую структуру, содержит все требуемые разделы: введение, в котором отражены актуальность работы, цель и задачи, научная новизна результатов; обзор литературы, экспериментальную часть с описанием использованных методик; главу с результатами и их обсуждением; заключение; выводы; список опубликованных работ; список цитированной литературы и приложения. Работа изложена на 197 страницах, содержит 61 рисунок, 24 таблицы и 2 приложения. Библиографический список содержит 300 источников.

Обзор литературы «ХОЛОДНАЯ ПЛАЗМА И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЕЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ» описывает способы генерации холодной плазмы, виды АФКА, их метаболизм, методы количественного и качественного определения АФКА в живых системах, параметры генерации ХПС, влияющие на интенсивность образования тех или иных АФКА. Описаны также предлагаемые на сегодняшний день молекулярные механизмы ответа клеток на окислительный стресс и на обработку ХПС как *in vitro*, так и *in vivo*.

Глава «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ» содержит описание используемых материалов, оборудования и методик экспериментов. Методики описаны ясно и подробно, что позволяет воспроизвести экспериментальную часть исследования.

Глава «РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ» содержит описание полученных результатов с их обсуждением и сопоставлением с результатами других исследователей. Стоит отметить масштабность анализа результатов, в том числе с указанием недостатков существующих методов анализа, что подчеркивает всестороннее владение соискателем материалов о предмете исследования.

Хорошо прослеживается логика исследования: сначала описаны результаты по подбору параметров обработки клеток ХПС, при которых наблюдается селективное воздействие на опухолевые клетки. Эксперименты проведены на клетках легкого и молочной железы человека, жизнеспособность проанализирована с использованием МТТ-

теста и оценки пролиферации в режиме реального времени. Использование дополнительного метода оценки жизнеспособности является преимуществом, так как МТТ-тест, основанный на оценке метаболизма клеток может давать искаженные результаты в данных условиях.

Наиболее интересной частью работы является анализ собственных экспериментальных данных транскриптома клеток аденокарциномы легкого и фибробластов легкого человека до и после воздействия ХПС. Получены новые данные о взаимосвязи ХПС-индуцированного стресса эндоплазматического ретикулула в опухолевых клетках с каскадом клеточной гибели. Получены данные об активации аутофагии на раннем этапе ответа и апоптоза на более поздних этапах. Показано повреждение ДНК в клетках и остановка клеточного цикла после обработки ХПС.

Данные, полученные при исследовании механизма клеточной гибели под действием ХПС, позволили модифицировать режимы облучения для животных-опухоленосителей. Выявлены режимы обработки опухолей ХПС, обеспечивающие торможение роста опухолей.

На основании полученных результатов автором работы сформулированы 5 выводов, которые полностью обоснованы. Результаты работы опубликованы в 4 статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных.

Кроме немногочисленных опечаток, к работе имеются следующие замечания и вопросы:

1. Объем в 197 страниц является избыточным для диссертации на соискание степени кандидата наук.
2. При обсуждении эффектов ХПС на опухолевые и здоровые клетки можно ли считать селективным воздействие с индексом селективности, равным 1,5-1,7?
3. Автор утверждает, что биологические эффекты ХПС, в основном, зависят от состава активных форм кислорода и азота, которые образуются в потоке плазмы. Возникает вопрос: в чем преимущество так называемой «прямой» обработки перед «непрямой», когда обработке подвергаются биологически-совместимые жидкости, которые затем могут добавлять к клеткам или доставляться путем инъекций к органам животных?
4. Как автор видит развитие работы с переходом к облучению более крупных площадей биологических тканей?

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

Заключение

Диссертационная работа Бирюкова Михаила Михайловича на тему: «Молекулярные каскады, определяющие селективность цитотоксического действия холодной плазмы атмосферного давления в отношении опухолевых клеток» является научно-квалификационной работой, результаты которой важны для развития представлений о действии холодной плазмы и активных форм кислорода и азота на опухолевые и здоровые клетки. Диссертация полностью соответствует требованиям пп. 2.1 – 2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а соискатель Бирюков Михаил Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Профессор
кафедры химии природных соединений
химического факультета
Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова
доктор химических наук



Копылов Алексей Михайлович

15 сентября 2025 г.

119991, Москва, Ленинские горы, дом 1,
строение 3
Телефон: 8 (495) 939-26-71
E-mail: kopylov.alex@gmail.com

