

Отзыв на автореферат диссертации

Тохтуевой Марии Дмитриевны *«Исследование противоопухолевой активности циклоплатинированных соединений и оценка их роли в запуске программируемой клеточной гибели в злокачественно перерожденных клетках»* на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16 – Медицинская химия

Общемировая потребность медицинского сообщества в новых химиотерапевтических препаратах существует давно. Несомненно, к новым молекулам-кандидатам предъявлены особые требования, среди которых помимо главного свойства – цитотоксической активности в отношении злокачественных клеток, есть требование – по возможности низкая цитотоксическая активность в отношении здоровых клеток организма. Поиск баланса между токсичностью для опухоли и минимальным вредом для здоровых тканей является как клинической задачей для практикующих врачей онкологов и химиотерапевтов, так и предметом фундаментальных исследований уже многие десятилетия. Одним из таких и является данная диссертационная работа.

В данной работе применён разносторонний подход для поиска взаимосвязи – структура молекулы и её биоактивность – при рассмотрении влияния различных комплексов платины II и платины IV на злокачественные клетки. Автор привлёк множество классических и современных методик клеточной биологии: культуры клеточных линий, проточная цитометрия, ПЦР. Могу высказать предположение, что данная работа даже могла быть успешно защищена по специальностям 1.5.4 Биохимия (химические или биологические науки) или 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки), т.к по своей сути вполне соответствует паспортам двух вышеупомянутых специальностей. Или даже одновременно по двум специальностям. Но это остаётся на усмотрение автора и научного руководителя.

По тексту автореферата в начале упомянута формулировка «соединение-лидер», а ниже по тексту «молекула-хит» или «соединение-хит». Не составляет труда догадаться, что речь об одном и том же, однако, хотелось бы единообразие формулировок по всему тексту работы для точного и недвусмысленного понимания.

Для оценки цитотоксического действия соединений платины были взяты линии злокачественных клеток, а в качестве сравнения с здоровыми клетками была взята линия эпителия эмбриональной почки человека НЕК293, но не были взяты первичные клетки, то есть, свежевыделенные из организма клетки, например, мононуклеарные клетки крови, ведь их получить легче всего. Или хотя бы клетки крови/селезенки/костного мозга/лимфоузлов/печени/мозга мыши, как наиболее близкого и удобного модельного организма. Представляется важным оценить действие молекулы-лидера на клетки крови и вообще клетки иммунной системы, т.к именно иммунокомпетентные клетки являются главным борцом в организме с опухолью.

МТТ-тест, в первую очередь, оценивает активность клеток, то есть по интенсивности превращения тетразолия в формазан ферментами живых клеток можно оценить Oх-Red активность клеток, косвенно тем самым и пролиферативную активность, т.к в быстро делящихся клетках интенсивность Oх-Red выше. Для оценки жизнеспособности рекомендуется, помимо использованного здесь МТТ-теста (который всё же является непрямым, косвенным методом), применять также другие методы оценки, например, тест с трипановым синим или эритрозином, где краситель проникает только в клетки с повреждённой мембраной и далее с помощью микроскопа произвести ручной подсчёт в счётной камере (камера Горяева, например) окрашенных красителем клеток, взятых из культуры. В качестве альтернативы при наличии технической возможности можно использовать автоматический подсчёт клеток в счётной камере с помощью прибора по типу

Countess. Или тест с окрашиванием флюоресцентными красителями – 7-аминоактиномицин Д (7AAD), который проникает только в клетки с повреждённой мембраной и связывается с ДНК, или пропидий йодид с последующей проточной цитометрией или любым другим техническим агрегатом, способном оценивать интенсивность флюоресценции. Также для оценки цитотоксического действия на клетки хорошо зарекомендовавшим себя является тест на продукцию лактатдегидрогеназы (ЛДГ), где можно фотометрически по интенсивности высвобождения ЛДГ из клеток оценить токсическое действие добавленного вещества на клетки. Далее по тексту работы оценена гибель клеток методом проточной цитометрии с использованием аннексин V-FITC & PI, что, разумеется, радует читателя и снимает какие-либо появившиеся сомнения касаясь оценки жизнеспособности клеток.

На рисунке 1 график слева черная жирная линия, соответствующая клетками линии НЕК293, при значении концентрации вещества 2.2е 5,4 мкмоль/л как видно из графика значения жизнеспособности клеток превышают 100%, как это можно объяснить?

В таблица 2 оценка индекса цитотоксичности представлена в виде $IC_{50} \pm SE$ (стандартная ошибка), может в данном случае более правильно было бы указывать не стандартную ошибку среднего, а стандартное отклонение SD (σ), в связи с чем вопрос: на каком количестве n для каждой клеточной линии здесь производили оценку цитотоксического действия веществ? Ведь для клеточных линий, где условно считается, что все клетки внутри одной линии однородны между собой, количество проведённых n экспериментов, по сути, можно считать техническими повторами.

Вывод 5 практически полностью по смыслу и логике повторяет выводы 3 и 4, а хотелось бы увидеть обобщающий вывод по всей работе, хотя это необязательно.

Положения, выносимые на защиту, следуют из полученных результатов, сформулированы достаточно конкретно и подробно, может даже излишне, т.к. по своей сути и формулировке практически повторяют выводы, что не всегда приветствуется. Однако, это всегда остаётся на усмотрение автора диссертации, научного руководителя и членов диссертационного совета.

Но всё же остаётся ряд вопросов:

1. Почему исследовали активность молекулы-лидера только на клеточных линиях, почему не были взяты первичные клетки, то есть, свежесделанные из организма, например, мононуклеарные клетки крови, ведь их получить легче всего (станции переливания крови, куда приходят здоровые доноры)? Или хотя бы клетки крови, селезенки, костного мозга, лимфоузлов мыши, как наиболее близкого и удобного модельного организма? Ведь это важно, как молекула-лидер действует на клетки крови и вообще клетки иммунной системы, т.к. именно иммунокомпетентные клетки являются главным борцом в организме с опухолью.
2. В работе указано, что молекула 2.2е индуцирует выработку значительного количества активных форм кислорода (АФК), однако известно, что опухолевые клетки сами постоянно производят большие количества АФК, это является одним из их способов уклонения от иммунного надзора. Вопрос: можно ли сказать, что исследуемое вещество-лидер 2.2е вызывает опасное для опухолевых клеток увеличение выработки АФК, что ведёт к их гибели?
3. Весьма смелое заявление об однозначности вывода о взаимодействии комплекса платины 2.2е именно с глутатионом, основанное на ЯМР экспериментах, выполненных в очень искусственных условиях (а именно растворитель безводный ДМСО d_6), существенно отличающихся от среды в клетках (где растворитель — это вода), отсюда вопрос: проводились ли аналогичные эксперименты, где в качестве растворителя использован физиологический буфер или хотя бы его смесь с ДМСО? Стоит также отметить, что выше в автореферате оценивали стабильность комплекса

2.2е методом ЯМР, причём использованная смесь 0,5 мл ДМСО д6 и 33 мкл физ.раствора не является физиологическими условиями. Аналогичный вопрос возникает к схеме 3, где предложено превращение комплекса платины IV в комплекс платины II в присутствии глутатиона в среде диметилформамида д7, что также является условиями далёкими от физиологических.

4. Является ли образование предлагаемого комплекса платины 2.2е с глутатионом необратимым? Стехиометрическое соотношение комплекса платины с глутатионом предложено как 1:1, при этом известно, что концентрация глутатиона в нормальных клетках составляет 0,5-10 **милли**-моль/л (в раковых ещё больше), а добавляемые количества исследуемого вещества 2.2е соответствовали концентрациям в диапазоне **микро**-моль/л, что является несопоставимыми по порядку величинами, как это можно объяснить?

Заданные вопросы и указанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают научно-практической значимости данной работы.

Диссертационная работа Тохтуевой Марии Дмитриевны соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), а её автор, Тохтуева Мария Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.16 – Медицинская химия.

На обработку персональных данных согласен.

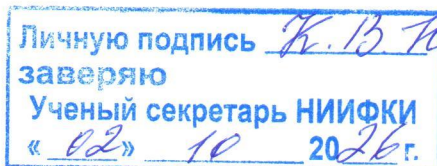
Научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии

НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Кандидат биологических наук

Назаров Кирилл Вячеславович

02.10.2026



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)

630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

Тел. +7(383) 222 19 10

Email kirill.lacrimator@mail.ru