

ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Белашова А. В. «Развитие методов цифровой голографии и томографии для исследования эффектов, обусловленных фотосенсибилизированной генерацией активных форм кислорода в растворах и клетках», представленной на соискание степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – Оптика.

В работе А.В.Белашова представлены результаты применения методов голографической микроскопии и голографической томографии для изучения различных процессов, связанных с генерацией активных форм кислорода. Часть проведенного исследования посвящена важной проблеме разработки новых неинвазивных методов изучения влияния активных форм кислорода, генерируемых с использованием фотосенсибилизаторов, на живые клетки различных типов. Актуальность работы обусловлена трудностями, связанными с длительным непрерывным мониторингом фотосенсибилизированных клеток с использованием методов флуоресцентной микроскопии, а также необходимостью развития новых оптических инструментов для определения морфологических характеристик клеток.

Действительно, традиционная флуоресцентная микроскопия или проточная цитофлуориметрия требуют дополнительных процедур введения меток для идентификации путей гибели клеток, что значительно удлиняет время исследования и повышает его стоимость. С другой стороны, пути гибели клеток имеют определенную последовательность изменения морфологических характеристик. Так, при апоптозе клетки округляются и в дальнейшем фрагментируются без потери сухой массы, тогда как при некрозе в результате разрыва мембраны теряется цитоплазма, и толщина клеток уменьшается. Разработанная в диссертации методика идентификации типа клеточной гибели основана на анализе динамики изменения оптических характеристик клеток после воздействия. Следует подчеркнуть, что при этом нет необходимости дополнительных манипуляций с клетками.

Полученные результаты демонстрируют возможность использования неинвазивных голографических методов для идентификации гибели живых клеток и оценки скорости этих процессов. Представленный метод был апробирован на двух клеточных линиях и позволил оценить их резистентность к фотодинамическому воздействию на разных дозах облучения. Полученные результаты и сделанные выводы были подтверждены путем определения типов гибели живых клеток с помощью традиционных методов. С биологической точки зрения, в работе получены два важных результата. Во-первых, продемонстрировано, что существует зависимость типа ответа клеток на возбуждение фотосенсибилизатора от дозы облучения. При низких дозах даже в

условиях непрерывного мониторинга фотосенсибилизированных клеток в течение шести часов токсический эффект голографической микроскопии отсутствовал, что является, вероятно, одним из основных преимуществ этого метода. Однако при повышении дозы клетки реагировали, запуская разные пути гибели. Во-вторых, продемонстрировано, что при сохранении общего паттерна ответа клеток разных линий на возрастающую дозу облучения, определенный тип ответа может иметь существенно отличающиеся пороговые значения дозы в зависимости от линии. Этот результат особенно важен с точки зрения перспектив развития персонализированной медицины, поскольку представленный метод позволяет осуществлять подбор наиболее эффективных доз, используя биопсийный материал конкретного пациента.

Таким образом, полученные результаты могут найти широкое применение при исследовании реакции живых клеток разных типов на внешние воздействия. Предложенный подход также может быть использован для разработки методов оценки резистентности раковых клеток к различным видам терапии. В целом, представленные методы и подходы и полученные результаты являются новыми и, учитывая высокую актуальность данной тематики, несомненно будут востребованы для фундаментальной и прикладной науки. Все основные полученные результаты были опубликованы в рецензируемых научных журналах и неоднократно докладывались на международных конференциях. В целом автореферат хорошо структурирован, написан понятным языком и отражает основное содержание диссертационной работы. Автореферат свидетельствует о том, что диссертационная работа полностью удовлетворяет основным требованиям к кандидатским диссертациям, а Андрей Владимирович Белашов заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук.

Главный научный сотрудник
Института белка РАН, д.б.н. профессор

Е.С.Надеждина