

О Т З Ы В

официального оппонента, д.м.н., профессора Маслова Л.Н. на диссертационную работу Тороповой Яны Геннадьевны на тему: «**Патофизиологические механизмы действия магнитных наночастиц оксида железа и перспективы их применения в тераностике**», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3) – патологическая физиология

Актуальность избранной темы. На сегодняшний день ведется активный поиск способов повышения эффективности ранней диагностики и лечения различных онкологических заболеваний. Большое внимание исследователи уделяют наномедицине, а именно использованию наночастиц. Последние способны обеспечивать направленную доставку лекарств к поврежденному участку, оказывать физическое воздействие на раковую опухоль, а также выполнять диагностическую функцию. Интерес к наночастицам оксида железа прежде всего связан с их относительно высокой биосовместимостью, а также наличием у данного вида наночастиц магнитных свойств, что определяет возможность управления их перемещением и перемещением лекарств, связанных с ними, с помощью внешнего магнитного поля. Такое управление обеспечивает локальное накопление лекарства в злокачественной опухоли, способствуя тем самым повышению эффективности лечения при одновременном снижении системной токсичности. Кроме того, воздействие магнитным полем позволяет обеспечивать генерацию наночастицами тепла, что лежит в основе их гипертермического противоопухолевого воздействия. Присущие наночастицам оксида железа магнитные характеристики, определяют возможность использования этих наночастиц в качестве контрастных агентов для магнитно-резонансной визуализации.

Несмотря на многофункциональность наночастиц оксида железа, до сих пор не существует разрешенных для клинического использования наночастиц на их основе. В определенной степени это связано с отсутствием понимания патофизиологических основ действия этих наночастиц. Это обстоятельство существенно осложняется зависимостью эффектов

наночастиц от множества факторов, включающих условия синтеза наночастиц, их физических и химических характеристик, а также режимов их использования. Исходя из вышеизложенного, диссертация Тороповой Яны Геннадьевны, посвященная исследованию патофизиологических механизмов действия наночастиц оксида железа отвечает критерию актуальности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование выполнено на значительном количестве экспериментального материала, достаточном для обоснования научных положений, выводов и практических рекомендаций. Выводы аргументированы и полностью соответствуют научным результатам.

Методические подходы, используемые в работе, соответствуют цели и задачам исследования. Так, для исследования эффектов наночастиц в отношении эндотелия была использована современная, высокоинформативная методика проволоочной миографии, позволяющая производить оценку сократительной и релаксационной функции изолированных сосудов. При исследовании системных эффектов наночастиц была использована методика магнитно-резонансной релаксометрии, дающая возможность оценивать компонентный состав тела. Для визуализации наночастиц в организме при проведении экспериментов был использован метод флуоресцентной визуализации наночастиц. Кроме того, был использован набор стандартных клиничко-лабораторных методик. Для анализа полученных данных автором был использован стандартный пакет статистических программ.

Обоснованность практических рекомендаций подтверждается патентом (Патент на изобретение RU 2694509 C1, 15.07.2019. Заявка № 2018132156 от 07.09.2018).

Таким образом, выводы и рекомендации являются логически и статистически обоснованными.

Научная новизна. Научная новизна диссертационного исследования основывается на комплексном подходе при исследовании патофизиологических механизмов действия наночастиц.

Диссертант показал, что наиболее перспективными для клинического внедрения являются наночастицы с оболочкой из альбумина и полилактида.

Диссертант впервые изучил и проанализировал в условиях *in vitro* влияние наночастиц на эндотелий. Получены новые данные об эффектах внутривенного введения немодифицированных и модифицированных наночастиц оксида железа на функцию эндотелия.

Впервые выявлена способность наночастиц с оболочкой из полилактида снижать уровень активных форм кислорода в условиях окислительного стресса.

Впервые подтверждена возможность прохождения наночастиц через стенку изолированного сосуда крысы и их локальное накопление в участке воздействия магнитного поля. Кроме того, была подтверждена пассивная и магнитоуправляемая доставка в опухоль наночастиц с оболочкой из полилактида при их внутривенном введении мышам.

Значимость результатов диссертации для науки и практики. Результаты диссертационной работы Тороповой Яны Геннадьевны характеризуются теоретической и практической значимостью, поскольку раскрывают физиологические и патофизиологические основы влияния наночастиц на клетки, органы и системы организма, а также являются основой для разработки способов адресной доставки лекарств с помощью внутривенного введения наночастиц оксида железа для лечения различных патологий (новообразования, сердечно-сосудистая патология и т.д.).

Полученные данные о системных эффектах модифицированных наночастиц оксида железа, подтверждено их накопление в опухоли под действием магнитного поля, что имеет прикладное значение, поскольку наночастицы могут быть использованы для доставки лекарств.

Публикации. По материалам диссертации Тороповой Яны

Геннадьевны опубликовано 29 работ, из которых – 17 статей в журналах ВАК и Scopus, а также изданы 2 главы в коллективных монографиях. Получен патент на изобретение.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на большом количестве экспериментального материала, использовании современных и высокоинформативных методов и подходов, адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Основные положения работы представлены и обсуждены на конференциях различного уровня: международной конференции Future Physiology-2021 (онлайн, 2021), Алмазовском молодежном медицинском форуме (г. Санкт-Петербург, 2019 и 2020 гг.), Четвёртом междисциплинарном симпозиуме по медицинской, органической и биологической химии и фармацевтике (Новый свет, Крым, 2018), XXIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии и биохимии – 2017» (Санкт-Петербург, 2017), III международной школе и конференции оптоэлектроники, фотоники, инженерии и наноструктур «Saint Petersburg OPEN 2016» (Санкт-Петербург, 2016), IV международной школе и конференции оптоэлектроники, фотоники, инженерии и наноструктур «Saint Petersburg OPEN 2017» (Санкт-Петербург, 2017), XXII всероссийской конференции Молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии-2016» (Санкт-Петербург, 2016), XIV Международной конференции «Мессбауэровская спектроскопия и ее применения» (Казань, 2016), IV международной научной конференции «Современные медицинские исследования» (Кемерово, 2016).

Личный вклад Тороповой Яны Геннадьевны состоит в выборе направления исследования, разработке экспериментальных протоколов,

непосредственном участии в экспериментах, анализе полученных данных, подготовки публикаций.

Часть работы, связанная с ее химической составляющей, а именно – синтез наночастиц, анализ их физико-химических характеристик, выполнена совместно с заведующим НИЛ нанотехнологий ИЭМ Центра Алмазова Королевым Д.В., заведующим химико-аналитическим НИО ИЭМ Центра Алмазова Скориком Ю.А., доцентом кафедры микро- и нанoeлектроники СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина) Гареевым К.Г.

Характеристика работы. Диссертационная работа Тороповой Яны Геннадьевны соответствует современным требованиям, написана научным языком и изложена на 304 страницах машинописного текста и включает разделы: введение, обзор литературы, глава «Материалы и методы исследования», 3 главы с результатами собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы.

Список литературы включает 359 источников, в числе которых 332 зарубежных. Работа обильно иллюстрирована и содержит 41 таблицу и 77 рисунков.

Во «Введении» автор определяет актуальность темы исследования, корректно формулирует цель исследования и 9 задач, последовательное решение которых направлено на достижение поставленной цели. Также во введении представлена информация о научной новизне исследования, теоретической и практической значимости, сведения об апробации результатов исследования, об их практическом внедрении, а также положения, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы» содержит исчерпывающие современные сведения об подходах к использованию наночастиц оксида железа для решения различных биомедицинских задач, включая их использование в качестве диагностических и теплогенерирующих агентов. Также в данной главе отражена информация о способах модификации поверхности наночастиц оксида железа с помощью нанесения оболочек. Отдельное

внимание уделено обзору механизмов их токсичности, а также патофизиологических основ направленной доставки химиотерапевтических препаратов с подробным описанием пассивных (основанных на структурных изменениях ткани в очаге патологии) и активных (основанных на сочетании механизмов пассивной доставки и условий, определяющих возможность управления перемещением в организме наноразмерного носителя) механизмов. Обзор литературы написан легким для восприятия языком, представлен достаточным объёмом информации, построен логически, отражает различные стороны проблемы и, в целом, позволяет составить представление о современном состоянии вопроса. На основе анализа литературных данных в заключении по обзору литературы автор убедительно обосновывает цель и задачи диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» дается детальная характеристика используемых в исследовании методов и подходов. Выбранные методы исследования адекватны поставленным задачам и позволяют посредством их решения достичь поставленной цели исследования. В работе использованы различные виды немодифицированных и модифицированных наночастиц, синтез каждого из которых подробно представлен и проиллюстрирован. Для каждого из проведенных экспериментов автор отдельно приводит характеристики экспериментальных групп и подробное описание методик с собственными фотографиями, что существенно упрощает восприятие информации. Автором использован внушительный спектр современных и высокоинформативных методов, что обеспечивает валидность и надежность полученных данных.

Результаты собственных исследований представлены в 3, 4 и 5 главах. Каждая из глав содержит несколько подразделов в соответствии с проведенными экспериментами. Положительным моментом является краткое обоснование необходимости проведения конкретного эксперимента в начале каждого из подразделов.

Глава 3 содержит результаты исследования патофизиологических механизмов действия различных видов немодифицированных наночастиц оксида железа (наночастиц магнетита и композитных наночастиц, содержащих в составе диоксид кремния). В данной главе приводятся сведения о физико-химических характеристиках исследуемых наночастиц, отражены их эффекты на эндотелий (в экспериментах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*), системные эффекты при однократном и многократном введении, представлены данные об органном распределении наночастиц при их внутривенном введении, а также их эффекты (в экспериментах *in vivo* и *ex vivo*) в условиях воздействия магнитного поля на гемодинамические параметры. В конце данной главы дано краткое обобщение полученных данных с обоснованием выбора немодифицированных наночастиц, обладающих наилучшей биосовместимостью. Данный вид наночастиц (наночастицы магнетита) был использован в дальнейших экспериментах с модификацией поверхности наночастиц оболочками, результаты которых отражены в главе 4.

В начале главы 4 представлены сведения о физико-химических характеристиках наночастиц магнетита, покрытых различными оболочками. Для покрытия поверхности наночастиц автор предлагает использовать 3 вида полимерных оболочек, характеризующихся биосовместимостью и биоразлагаемостью (полисахарид, полилактид, альбумин). Также в данной главе отражены результаты исследования патофизиологических механизмов действия модифицированных наночастиц на эндотелий, на уровень активных форм кислорода, а также системные эффекты наночастиц при их внутривенном введении. В конце данной главы полученные данные обобщены с формированием заключения о наибольшей биосовместимости наночастиц магнетита с оболочками из полилактида и альбумина.

В главе 5 автор приводит данные, посвященные подтверждению концепции направленного транспорта (определенных автором как наиболее биосовместимые) немодифицированных и модифицированных наночастиц

для обоснования их способности выступить в качестве носителя лекарств. Для проведения отдельных экспериментов автор использовал собственную разработку – гидродинамический стенд, позволяющий изучать прохождение наночастиц через стенку изолированного сосуда. Для подтверждения концепции направленного транспорта наночастиц в условиях целого организма использована модель опухолевого процесса у мышей и методика флуоресцентной визуализации в организме наночастиц с помощью биоимиджера. Автором убедительно представлены доказательства возможности управления перемещением в организме наночастиц с помощью магнитного поля.

В разделе «Заключение» автор обобщает полученные в ходе работы данные.

Сформулированные автором выводы корректны и основаны на фактическом содержании работы. Они полностью отражают полученные результаты.

В целом работа хорошо структурирована, производит хорошее впечатление, характеризуется комплексностью и масштабностью.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы нет. При ознакомлении с работой возник ряд вопросов, носящих дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. Какова, по Вашему мнению, наиболее вероятная причина выявленных различий в функциональной активности эндотелия сосудов при внутривенном введении наночастиц магнетита в интактных условиях и в условиях изменяющейся скорости кровотока?

2. В работе прослеживается четкая дозозависимость оказываемых наночастицами эффектов. Является ли это ограничением при их будущем использовании в клинических условиях?

3. Немодифицированные композитные наночастицы оказывают более выраженный гемолитический эффект по сравнению с наночастицами магнетита, но при этом они обеспечивают более выраженное снижение уровня активных форм кислорода. Каким представляется механизм, лежащий в основе гемолитического эффекта данного вида наночастиц и за счет чего он отличается от такового у наночастиц магнетита?

Указанные вопросы не влияют на позитивное восприятие и высокую оценку диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Тороповой Яны Геннадьевны на тему: «Патофизиологические механизмы действия магнитных наночастиц оксида железа и перспективы их применения в тераностике», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3 – согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология, представляет собой законченную самостоятельно выполненную научно-квалификационную работу, содержащую решение актуальной научной проблемы, заключающейся в исследовании патофизиологических механизмов действия наночастиц оксида железа и подтверждении перспектив их применения в тераностике.

Работа по своей актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследований полностью отвечает требованиям раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (с послед. изменениями и ред.) и может быть рекомендована к защите в диссертационном совете по специальности 14.03.03 (3.3.3 – согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология. Автор диссертации Торопова Яна Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Доктор медицинских наук,
 профессор,
 руководитель лаборатории
 экспериментальной кардиологии
 Научно-исследовательского института
 кардиологии ФГБНУ
 «Томский национальный исследовательский
 медицинский центр» РАН
 Маслов Л.Н.

Подпись д.м.н., проф. Маслова Л.Н. заверяю
 Ученый секретарь ФГБНУ
 «Томский национальный исследовательский
 медицинский центр» РАН



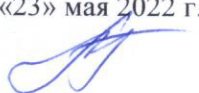
Секретарь А.Ю. Хитрицкая



«12» мая 2022 года

Маслов Леонид Николаевич, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории экспериментальной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» РАН, Адрес: г. Томск, 634012, ул. Киевская 111А. Телефоны: (382) 256-12-32. email: cardio@cardio-tomsk.ru

Отзыв официального оппонента Маслова Л.Н. поступил «23» мая 2022 г.
 Ученый секретарь Совета Д 004.027.02

 И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «23» мая 2022 г.
 Соискатель

 Я.Г. Торопова