

## ОТЗЫВ

официального оппонента, члена-корр. РАН, д.б.н., доцента Шамовой О.В. 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.** Актуальность данного исследования не вызывает сомнения и обусловлена неуклонным ростом развития современного направления – тераностики, основанном на совмещении диагностики различных заболеваний и терапевтического воздействия, в том числе адресного. Адресное воздействие за счет локального накопления лекарственных препаратов в повреждённом участке позволяет повысить их эффективность, а также уменьшить побочные эффекты, которые связаны, как правило, с низкой избирательностью лекарственного воздействия. Локальное накопление лекарств может достигаться за счет использования наноразмерных структур различного состава (липосомы, мицеллы, наночастицы и т.д.). Среди наночастиц используется широкий спектр материалов, включая полимерные мицеллы, углеродные и перфторуглеродные наночастицы, наночастицы неорганической природы, квантовые точки и т.д. Перспективными агентами для тераностических решений являются наноразмерные частицы оксида железа. Данный вид наночастиц позволяет не только выполнять функцию носителя лекарств, а также за счет наличия магнитных свойств может быть использован как контрастный агент, для магнитно-резонансной томографии. Кроме того, он может быть активирован в случае необходимости под действием внешнего магнитного поля для реализации гипертермического воздействия. Однако, несмотря на очевидный интерес к использованию наноразмерных наночастицам оксида железа для задач тераностики, до сих пор не составлено единого представления о механизмах их эффектов, реализуемых при введении в организм. Это существенно сдерживает разработку тераностических агентов на основе данного вида наночастиц. Исследованию патофизиологических аспектов действия магнитных наночастиц на основе оксида железа и обоснованию возможности их использования в тераностике и посвящена диссертационная работа Тороповой Яны Геннадьевны. В работе исследованы патофизиологические механизмы эффектов немодифицированных и модифицированных наночастиц на основе оксида железа при планируемом в клинических условиях способе их введения в

организм, определен вид наночастиц, обладающих наилучшей биологической совместимостью, а также подтверждена возможность применения данных наночастиц для обеспечения адресности воздействия.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации,** обеспечивается достаточной теоретической базой, представленной научными трудами отечественных и зарубежных ученых, а также определяется достаточным объемом экспериментального материала, который был получен с помощью современных методов и подходов. Качество и достоверность исследования подтверждаются выполнением работ на высоком методическом уровне с использованием как традиционных, так и современных методов, а также высокотехнологического оборудования (ИК-Фурье спектрометр Nicolet 8700 (Thermo Fisher Scientific, США), проточного лазерного цитометра Guava EasyCyte 8 (Milipore), проволочного миографа DMT 620M (Дания), тканевого анализатора состава тела EchoMRI 500 (система Echo Medical Systems' EchoMRI™ Whole Body Composition Analyzer), биоимиджера IVIS Lumina LT Series III (PerkinElmer Inc., США). Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием современного пакета статистических программ, достоверность результатов не вызывает сомнений. Глубокий и аргументированный анализ полученных данных наглядно отражен в диссертации в виде графиков, рисунков и таблиц. Выводы аргументированы и соответствуют полученным научным результатам. Практические рекомендации подкреплены практикой внедрения в учебный процесс, а также патентом. Объем и дизайн диссертационного исследования в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук. Содержание диссертационной работы полностью соответствует поставленной цели и задачам исследования.

**Научная новизна.** Научная новизна диссертационного исследования определяется получением приоритетных данных о влиянии немодифицированных и модифицированных магнитных наночастиц на основе оксида железа на эндотелий при их внутрисосудистом введении в различных экспериментальных протоколах с помощью методики проволочной миографии, позволяющей оценивать функциональную активность изолированных сосудов в ответ на действие агонистов, обеспечивающих их вазоконстрикцию и вазодилатацию. Так, установлено, что внутривенное введение наночастиц магнетита снижает способность артерий брыжейки к сокращению в отсутствие воздействия и повышает указанную способность в условиях изменяющейся скорости кровотока.

Впервые в стендовых условиях на оригинальном гидродинамическом стенде, разработанном в Институте экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России, подтверждена концепция направленного транспорта немодифицированных наночастиц магнетита.

Впервые подтверждена пассивная и магнитоуправляемая доставка в опухоль наночастиц магнетита с оболочкой из полилактида при их внутривенном введении мышам.

Комплексный подход к анализу патофизиологических эффектов немодифицированных и модифицированных магнитных наночастиц оксида железа позволил определить наиболее перспективные варианты для разработки новых технологий адресной доставки лекарств – немодифицированные наночастицы магнетита и модифицированные оболочкой из альбумина и полилактида наночастицы магнетита.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные новые данные о физиологических и патофизиологических аспектах взаимодействия магнитных наночастиц оксида железа, обладающих различными физико-химическими характеристиками, с клетками, органами и системами организма позволяют дополнить и систематизировать имеющиеся сведения о взаимодействиях магнитных наночастиц оксида железа с биологическими объектами различного уровня (клеточный, органнй, организменный).

Практическая значимость работы связана с возможностью использования полученных результатов, касающихся патофизиологических эффектов немодифицированных наночастиц для разработки способов адресной доставки лекарств, предназначенных для коррекции различных видов патологии с помощью внутривенного введения магнитных наночастиц оксида железа. При этом сформированное представление о системных эффектах модифицированных наночастиц, а также подтверждение их накопления в опухоли под действием магнитного поля может явиться основой для разработки многофункциональной технологии магнитоуправляемой доставки цитостатиков, предусматривающей возможность одновременного сочетания различных свойств магнитных наночастиц в разрезе концепции тераностики.

**Публикации.** По материалам диссертации автором опубликовано 29 работ, включая 17 статей в изданиях, рецензируемых ВАК, и входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus, 2 главы в коллективных монографиях, а также получен 1 патент.

**Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора.** Достоверность результатов работы, правомочность основных

положений и выводов основаны на достаточном экспериментальном материале, использовании при проведении исследования современных методов и высокотехнологичного оборудования и адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Основные положения диссертации 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).

Планирование научной работы, постановка цели и задач проводились совместно с научными консультантами – д.м.н., член-корр. РАН Михаилом Михайловичем Галагудзой и д.м.н. Алексеем Яковлевичем Багровым. Часть работы, посвященная синтезу наночастиц и получению сведения об их физико-химических характеристиках, 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 наноэлектроники СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина) Гареевым К.Г. Выбор направления и организации исследования, разработка экспериментальных протоколов выполнен лично автором. Автор работы Я.Г. Торопова принимала непосредственное участие на всех этапах получения результатов. Анализ и интерпретация полученных данных, статистическая обработка, подготовка научных публикаций, написание и оформление рукописи, внедрение результатов диссертационной работы выполнены лично автором.

**Характеристика работы.** Диссертация Тороповой Яны Геннадьевны изложена на 304 страницах машинописного текста и состоит из введения,

обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, включающего 359 источников, из которых 27 – российских и 332 – зарубежных. Работа иллюстрирована 41 таблицей и 77 рисунками.

Во «Введении» автор аргументированно обосновывает актуальность работы и выбор темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации, новизну, теоретическую и практическую значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» подробно освещаются данные об использовании наночастиц оксида железа в современной биомедицине, а также описываются имеющиеся подходы к модификации поверхности наночастиц, раскрыто современное представление о механизмах токсичности данного вида наночастиц. Важным разделом данной главы является детальное представление патофизиологических основ направленной доставки химиотерапевтических препаратов, как наиболее востребованных с позиции реализации принципов тераностики. В разделе «Заключение по обзору литературы» представлен краткий анализ проведенного литературного обзора, итогом которого явилось заключение о необходимости расширения представления о патофизиологических механизмах действия наночастиц оксида железа и подтверждения возможности их использования в рамках концепции тераностики.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно представлена информация о методиках синтеза всех используемых диссертантом видов наночастиц оксида железа (модифицированных и немодифицированных), отражены методы для исследования их физических и химических характеристик. Подробно, с представлением собственных фотографий экспериментальных установок, изложен дизайн отдельных экспериментов, посвященных исследованию патофизиологических механизмов действия немодифицированных и модифицированных наночастиц оксида железа, а также экспериментов, выполненных в стендовых условиях. Автором использован широкий спектр современных методов, обеспечивших надежность полученных результатов. Результаты исследований адекватно обработаны математически с использованием современных статистических программ.

Результаты собственных исследований отражены в 3 главах.

Глава 3 посвящена исследованию патофизиологических механизмов действия немодифицированных наночастиц оксида железа. В качестве объектов исследования выступали немодифицированные наночастицы, полученные различными способами. В данной главе представлены основные

физико-химические характеристики исследуемых видов наночастиц и в сравнительном аспекте в различных экспериментах исследованы их патофизиологические эффекты. Итогом проведенных исследований стал выбор наночастиц оксида железа, обладающего наилучшей биосовместимостью – наночастицы магнетита.

Глава 4 отражает результаты исследований патофизиологических механизмов действия наночастиц магнетита, модифицированных различными полимерными оболочками, выбранных при анализе результатов главы 3. В данной главе отражены основные физико-химические характеристики наночастиц магнетита, покрытых различными оболочками, а также в аспекте сравнения описаны основные механизмы действия модифицированных наночастиц. На основании анализа полученных данных автором сделан вывод о перспективности использования в качестве средства тераностики наночастиц с оболочкой из полилактида и альбумина.

В главе 5 представлены результаты, подтверждающие концепцию адресной магнитоуправляемой доставки наночастиц оксида железа. Полученные результаты являются логическим завершением всей проведенной работы.

Результаты исследований обобщены и кратко обсуждены в главе «Заключение». Сформулированные выводы диссертации непосредственно вытекают из собственных данных автора и четко отражают существо и значимость полученных результатов и сформулированных концепций.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты исследования нашли применение в учебном процессе кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, а также кафедры патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Также получен патент на изобретение «Гидродинамический стенд для исследования проницаемости стенок сосудов для магнитных наночастиц под воздействием внешнего магнитного поля» (Патент РФ №2018132156 от 07.09.2018).

**По ходу рассмотрения работы возник ряд вопросов и замечаний.** По содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет.

Однако возникли некоторые вопросы, носящие, в целом, дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. В названии диссертации и во вводной части ее текста указывается, что магнитные наночастицы представляют собой перспективные платформы для тераностики. Ограничивается ли применение магнитных наночастиц тераностикой опухолей? При каких других патологических процессах могут найти применение магнитные наночастицы для обеспечения одновременной визуализации очага и терапевтического воздействия на него?

2. При оценке влияния наночастиц магнетита на сосудистую реактивность *in vitro* (брыжеечная артерия) после их однократного внутривенного введения было показано снижение сократительной активности при неизменной релаксации. При оценке аналогичных параметров на тех же сосудах после окончания эксперимента с изменяющейся скоростью потока было показано отсутствие изменений сократительной активности и снижение способности к релаксации. Такой противоречивый результат связан только с отличающейся дозой наночастиц или с какими-либо иными факторами?

3. Каков предположительный механизм развития гиперцитокинемии в виде повышения концентрации интерлейкина-1 $\beta$  и моноцитарного хемотаксического белка-1 на 15 сутки после однократного внутривенного введения животным магнитных наночастиц?

В целом, указанные замечания и вопросы не влияют на позитивное восприятие и 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, является законченной научно-квалификационной работой, направленной на решение актуальной проблемы: исследование патофизиологических механизмов действия магнитных наночастиц оксида железа и подтверждение перспектив их применения в тераностике.

По своей актуальности, новизне, методическому уровню и объему исследований, теоретической и практической значимости представленная работа Тороповой Яны Геннадьевны полностью соответствует 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 для защиты в диссертационном совете по специальности 14.03.03 (3.3.3 – согласно новой

Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология, а автор работы заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Доктор биологических наук,  
доцент, член-корр. РАН,  
заведующая Отделом общей патологии  
и патологической физиологии  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
Минобрнауки России



О.В. Шамова

Подпись д.б.н., доцента, члена-корр. РАН Шамовой О.В. заверяю  
Ученый секретарь ФГБНУ  
«Институт экспериментальной медицины»  
Минобрнауки России  
д.б.н.



Н.Н. Пшенкина

«06» мая 2022 года

Шамова Ольга Валерьевна, д.б.н., доцент, член-корр. РАН, заведующая отделом общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, Адрес: г. Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, д. 12. Телефоны: (812) 234-68-68. email: iem@iemspb.ru

Отзыв официального оппонента Шамовой О.В. поступил «26» мая 2022 г.  
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02



И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «26» мая 2022 г.  
Соискатель



Я.Г. Торопова