

О Т З Ы В

официального оппонента, д.б.н. Шаройко Владимира Владимировича 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 согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология

Актуальность избранной темы. Интенсивное развитие нанотехнологий обеспечивает существенный прогресс медицины за счет замещения апробированных методов лечения и диагностики различных заболеваний новыми методами и подходами, основанными на использовании различных наночастиц, и обладающими большим терапевтическим потенциалом и диагностической точностью. Отдельное внимание при этом уделяется возможности совмещения терапевтического и диагностического воздействия с помощью одного наноструктурного агента. Данный подход лежит в основе такой стремительно развивающейся области медицины как тераностика. Особо актуальным на сегодняшний день является разработка мультифункциональных наноструктур для тераностики злокачественных опухолей. Такая разработка базируется на одновременной возможности наночастиц визуализировать опухоль в организме, непосредственно воздействовать на опухолевые клетки или обеспечивать адресность доставки цитостатических препаратов, увеличивая их биодоступность для опухоли. Магнитные наночастицы оксида железа позволяют решать указанные задачи за счет наличия у них контрастных свойств, их способности к нагреву, возможности направления их движения в организме к патологически изменённому органу с помощью внешнего магнитного поля. Разработкам систем адресной доставки лекарств с помощью наночастиц посвящено большое количество работ, однако практическое внедрение многофункциональных систем на основе магнитных наночастиц оксида железа существенно сдерживается за счет отсутствия понимания механизмов их воздействия на организм.

Диссертация Я.Г. Тороповой представляет собой комплексное исследование, посвященное выявлению патофизиологических механизмов действия магнитных наночастиц на основе оксида железа на различных уровнях организма с учетом режима и способа планируемого клинического применения и обосновывающее возможность их применения в тераностике. Данная работа является актуальной как с научной, так и с практической точки зрения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование Я.Г. Тороповой характеризуется высоким методическим уровнем, системным и комплексным подходом к достижению поставленной цели. Автором использован комплекс современных методов (патофизиологических, биохимических, гистологических и т.д.), а также соответствующие поставленным задачам модельные системы (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*). Объем экспериментального материала достаточен для выполнения корректной статистической обработки и обеспечения доказательности. Выводы четко аргументированы, лаконичны, обоснованы и не вызывают принципиальных возражений.

Научная новизна. Данные, полученные в ходе диссертационного исследования, обладают научной новизной, которая заключается в оригинальности поставленных автором задач, а также в используемом наборе методологических подходов. Так, впервые в различных экспериментальных протоколах, учитывающих специфику планируемого клинического использования наночастиц, проведено комплексное исследование патофизиологических механизмов действия различных видов немодифицированных наночастиц и наночастиц с различными оболочками. На основании анализа полученных автором данных наночастицы магнетита с оболочкой из полилактида и наночастицы с оболочкой из альбумина определены как наиболее перспективные для разработки новых технологий адресной доставки лекарств на основе магнитных наночастиц оксида железа.

Также автор впервые установил в различных экспериментальных протоколах, что внутривенное введение наночастиц магнетита снижает способность артерий брыжейки к сокращению в интактных условиях и повышает эту способность в условиях изменяющейся скорости кровотока. Впервые обнаружена способность наночастиц магнетита с оболочкой из полилактида снижать уровень активных форм кислорода в интактных условиях, а также в условиях окислительного стресса. Для экспериментального обоснования возможности применения магнитных наночастиц оксида железа проведены стендовые испытания на оригинальной установке, позволившие установить факт прохождения наночастиц магнетита через стенку изолированного сосуда под воздействием внешнего магнитного поля. Также в экспериментах на мышах с опухолевым процессом доказан эффект пассивного транспорта к опухоли наночастиц магнетита с оболочкой из полилактида при их внутривенном введении, а также увеличение накопления данного вида наночастиц в опухоли под действием импланта с магнитными свойствами.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертации. Диссертация Я.Г. Тороповой носит отчетливую научную направленность, позволяя установить физиологические и патофизиологические аспекты взаимодействия немодифицированных и модифицированных магнитных наночастиц оксида железа, с клетками, органами и системами организма. Важным является то, что полученные данные позволяют расширить и систематизировать уже имеющуюся информацию об патофизиологических механизмах действия магнитных наночастиц оксида железа.

Значимое прикладное значение результатов данной работы заключается в формировании основы для разработки широкой линейки технологий адресной доставки лекарств на основе наночастиц оксида железа (пассивная доставка, магнитоуправляемая доставка с помощью немодифицированных и модифицированных наночастиц оксида железа), которая может быть

использована и для решения задач тераностики. Также практическую значимость работы подчеркивает наличие патента РФ на изобретение и внедрение результатов работы в учебный процесс кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России и кафедры патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Публикации. По материалам диссертационного исследования Я.Г. Тороповой опубликовано 29 работ, из них 17 статей представлены в изданиях, рецензируемых ВАК, и входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus, 2 главы в коллективных монографиях, патент РФ на изобретение.

Степень достоверности, апробация результатов, личный вклад автора. Результаты исследования получены на сертифицированном оборудовании, основаны на достаточном объеме экспериментального материала и корректной статистической обработке данных, что подтверждает их достоверность. Выводы, положения, выносимые на защиту, правомерны, логически следуют из полученных результатов. Материалы работы в полном объеме были представлены на всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Я.Г. Тороповой лично осуществлен выбор направления и организации исследования, разработка экспериментальных протоколов, также автор принимала непосредственное участие на всех этапах получения результатов, анализа экспериментальных данных, подготовки публикаций.

Характеристика работы. Диссертация Я.Г. Тороповой является законченным самостоятельным научным исследованием. Работа построена в общепринятом стиле, изложена на 304 страницах текста стилистически грамотным языком и состоит из следующих разделов: введение и обзор литературы, глава «Материалы и методы исследования», 3 главы,

отражающие собственные результаты исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Диссертационное исследование очень наглядно проиллюстрировано, содержит 41 таблицу и 77 рисунков. Список литературных источников включает 359 работ отечественных и зарубежных авторов.

Во введении автором обоснована актуальность исследования, определены его цель и задачи, представлена новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, отражены положения, выносимые на защиту. Также указаны данные по апробации научного исследования и внедрению его результатов в практику, а также количество работ автора по данной тематике.

Обзор литературы дает полное представление о современном состоянии теоретических и практических сторон работы. Автор провел тщательный анализ представленной литературы, что подтверждается корректным цитированием.

В главе «Материалы и методы исследования» представлена информация о методах и подходах, используемых для решения поставленных задач, а также отражен дизайн самого исследования и дано описание методов статистической обработки данных. Выбор методов и подходов обоснован.

В главе 3 изложены результаты исследования патофизиологических механизмов действия немодифицированных наночастиц оксида железа, полученных различными методами, при их взаимодействии с клетками крови, с организмом при внутривенном введении. Автором поэтапно исследованы основные механизмы наночастиц, применительно к их планируемому способу введения в клинических условиях. Отдельное внимание при этом уделено взаимодействию наночастиц с эндотелием.

В главе 4 представлены данные, полученные в ходе исследования патофизиологических механизмов действия модифицированных различными оболочками наночастиц оксида железа. В данной главе сделан акцент на основных параметрах биосовместимости наночастиц – их системных

эффектах при внутривенном введении, их взаимодействию с эндотелием и клетками крови.

В главе 5 приведены результаты, посвященные экспериментальному обоснованию применения магнитных наночастиц оксида железа для магнитоуправляемого транспорта лекарств.

В разделе **«Заключение»** автором суммированы полученные в ходе поэтапного выполнения работы результаты.

Работа Я.Г. Тороповой производит хорошее впечатление, выполнена в логической последовательности и обладает завершенностью.

Выводы диссертации сформулированы четко, объективны, полностью отражают содержание работы.

Автореферат диссертации выполнен в соответствии с требованиями ВАК, содержит все необходимые разделы, материал адаптирован для легкого восприятия и полностью отражает материалы работы.

Замечания к диссертационной работе.

Принципиальных замечаний, способных повлиять на высокую степень оценки работы, нет.

В качестве дискуссии предлагаются следующие вопросы:

1. В стендовых условиях показано прохождение под действием магнитного поля наночастиц магнетита через стенку изолированного сосуда. Какое представление у автора об оказываемых при этом наночастицами эффектах на эндотелий? Стоит ли ожидать при таком активном перемещении наночастиц через стенку сосудов ее повреждения?

2. За счет чего, по мнению автора, различаются биологические эффекты немодифицированных наночастиц магнетита и композитных наночастиц с оболочкой из диоксида кремния? Возможно ли определить при этом, какие из выявленных эффектов наночастиц в большей степени обусловлены их физическими, а какие – химическими характеристиками?

3. С чем связан выбор дискретных точек при оценке органного распределения немодифицированных наночастиц в организме крыс?

4. Какие предположительно молекулярные механизмы могут лежать в основе ингибирования продукции АФК в интактных условиях и в условиях индуцированного окислительного стресса в присутствии наночастиц магнетита с покрытием из полилактида?

5. В работе использованы разные подходы по изучению дзета-потенциала МНЧ. В связи с этим хотелось бы уточнить, на основе какого принципа и каким образом рассчитывался дзета-потенциал МНЧ?

6. В автореферате и диссертации указано, что концентрация NO в образцах крови измерялась с использованием ИФА. Уточните пожалуйста методический подход, использованный в работе.

7. В исследовании фигурируют наночастицы магнетита с оболочкой из полисахарида (например, Таблица 7, стр. 35 автореферата). Какой именно полисахарид использовался?

Перечисленные выше вопросы и замечания существенно не влияют на основные выводы и положения диссертации.

Заключение. Диссертационная работа Я.Г. Тороповой 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 научным квалификационным трудом, в котором автором решается важнейшая проблема современной биомедицины – установление патофизиологических механизмов действия магнитных наночастиц оксида железа, а также обоснование их применения в тераностике.

Работа 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.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Я.Г. Торопова заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по

специальности 14.03.03 (3.3.3 – согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология.

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
кафедры общей и биоорганической химии
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России

Шаройко В.В.

Подпись д.б.н. Шаройко В.В. заверяю
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
д.м.н., профессор



Беженарь В.Ф.

«12» мая 2022 года

Шаройко В.В., д.б.н., ведущий научный сотрудник кафедры общей и биоорганической химии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России. Адрес: г. Санкт-Петербург, 197022, ул. ул. Льва Толстого, д. 6-8. Телефон: (812) 338-66-00. email: info@1spbgmu.ru

Беженарь В.Ф.

Подпись руки заверяю: <i>Шаройко В.В.</i>		
Специалист по кадрам		
Е.В.Руденко <i>ER</i>		
«12»	05	2022г.

Отзыв официального оппонента Шаройко В.В. поступил «31» мая 2022 г.
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02

IA
И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «31» мая 2022 г.
Соискатель

YG
Я.Г. Торопова