

Отзыв официального оппонента

На диссертацию Яременко Алексея Владимировича

на тему «**Определение биодegradации и токсичности магнитных наночастиц в процессах их взаимодействия с организмом**», представленную на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - «молекулярная биология»

Диссертационная работа Алексея Владимировича Яременко представляет собой детальное исследование, посвященное изучению магнитных наночастиц (физико-химических свойств) и их взаимодействия с биологическими объектами *in vitro* и *in vivo*, включая биодegradацию, токсичность, и влиянию метаболитов магнитных частиц на живой организм.

Актуальность темы исследования:

В соответствии с общемировыми тенденциями приоритетными направлениями развития нанобиотехнологий является использование наночастиц в различных отраслях, включая экспериментальную биологию и медицину. На сегодняшний день адресная доставка лекарств, осуществляемая при помощи наночастиц является одним из перспективных методов тераностического подхода для лечения и анализа эффективности терапии онкологических заболеваний, визуализации биологических объектов, и т. д. Однако, несмотря на широкий круг использования наночастиц, механизмы их взаимодействия как с различными типами клеток, так и с организмом в целом остаются слабо изученными. Кроме того, тенденция синтеза новых наночастиц и их разнообразная модификация требует поиска универсальных зависимостей поведения наночастиц при контакте с биологическими объектами от свойств наноагентов. Диссертационная работа А. В. Яременко посвящена взаимодействию магнитных наночастиц с клетками крови и макрофагами печени *in vitro*, а также их дegradации *in vivo*, что является актуальной темой в современной нанобиотехнологии.

Общая характеристика содержания работы:

Автором проведен широкий литературный обзор материалов, дающий полное представление о поставленной цели и проведена обширная работа в экспериментальной части. Данная работа представляет собой надлежащее оформленные и доступно представленные результаты исследования, которые определенно имеют научную и практическую ценность для научного сообщества.

Диссертационная работа изложена на 127 страницах машинописного текста, содержит 4 таблицы, 53 рисунка и включает следующие главы: Введение, Обзор литературы, Материалы и

методы, Результаты и обсуждения, Выводы, Благодарности, а также Список литературы из 173 источников и Список сокращений.

Апробация работы:

По теме диссертации опубликовано 11 работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, и 6 тезисов конференций, посвященных проблемам применения магнитных наночастиц. Апробация результатов полностью отражает содержание и основные научно-практические положения диссертационной работы.

Научная новизна диссертационной работы:

В данной работе А. В. Яременко были продемонстрированы важные аспекты, затрагивающие использование и анализ магнитных наночастиц при работе с биологическими объектами. В частности, автором предложен новый способ исследования в реальном времени выведения наночастиц макрофагами в модели перфузии изолированной печени. С использованием этой модели исследовано влияние на выведение магнитных наночастиц из сосудистого русла печени белковых компонентов крови, в частности альбумина. Впервые было проведено масштабное исследование взаимодействия библиотеки магнитных наночастиц с эритроцитами, результаты которого продемонстрировали влияние физико-химических свойств магнитных наночастиц на эффективность их связывания с поверхностью эритроцитов. В работе было показано, что долгая циркуляция частиц в кровотоке и изменение их биораспределения при доставке наночастиц на поверхности эритроцитов могут быть независимыми процессами, однако высокая адгезия некоторых наночастиц к эритроцитам значительно продлевала их циркуляцию в кровотоке. Было продемонстрировано широкое сравнительное исследование долговременной судьбы магнитных наночастиц в организме мышей. Кроме того, в работе прекрасно отмечено влияние физико-химических свойств и поверхностного заряда наночастиц на время их деградации *in vivo*. Отличительной особенностью можно считать наблюдение полного жизненного цикла магнитных частиц *in vivo* и связанного с этим воздействия на организм, проведенное на примере наночастиц с покрытием из глюкуроновой кислоты. Данное исследование затрагивает гематологические показатели крови (изменения в показателях эритроцитов и гемоглобина) из-за высвобождения железа, изучение токсичности в тканях, а также широкое исследование экспрессии генов Fe-ассоциированных белков (DMT1, DMT1-(IRE), ферритина (тяжелая и легкая цепи), феропортина и трансферина) в ответ на деградацию железосодержащих частиц.

Практическая и теоретическая значимость работы:

В диссертационной работе присутствует практическая и теоретическая значимость. В частности, автором было отмечено, что разработанный способ изучения циркуляции наночастиц в изолированной печени, основанный на высокопроизводительной магнитометрии, может быть использован для поиска новых механизмов связывания и выведения наночастиц из кровотока, а также для разработки новых наноагентов, обладающих длительным временем циркуляции. Кроме того, результаты исследования взаимодействия наночастиц с эритроцитами демонстрируют высокий терапевтический потенциал подхода транспорта малоразмерных частиц на клетках крови для создания терапии агрессивных и мелкоклеточных типов рака, и облегчения течения ряда других острых и хронических заболеваний легких. Также, полученные данные о биодegradации магнитных наночастиц могут быть применимы для теоретической оценки биодegradации и безопасности целого ряда магнитных наночастиц на основе ядер магнетита, широко используемых в настоящее время как в клинике, так и в научных исследованиях. Глубокое понимание реакции организма на дegradацию частиц может принести новые направления в область проектирования контрастных веществ для МРТ.

Достоверность полученных решений, выводов и рекомендаций:

Положения, сформулированные в диссертационной работе Алексея Владимировича Яременко, основаны на большом объеме данных, обработаны с использованием современных статистических методов анализа, и не вызывают сомнений в достоверности.

Обзор литературы:

Данный раздел содержит большой объем хорошо изложенной информации, затрагивающей вопросы исследования физико-химических свойств наночастиц и их детекции, взаимодействия магнитных наночастиц с компонентами крови, их опсонизации, а также эндоцитоза наночастиц. Кроме того, в данном разделе раскрыта проблема исследования взаимодействия магнитных наночастиц с клетками Купфера, в том числе в условиях перфузионной модели печени. В обзоре литературы представлены современные проблемы фармакокинетики, циркуляции и дegradации магнитных наночастиц. Автор уделил внимание и вопросам влияния процессов биодegradации наночастиц на организм, что является важным для проделанной работы и подчеркивает актуальность исследования.

Материалы и методы:

В данном разделе автором представлен широкий набор современных методов исследования, который в сжатой, но информативной манере раскрывает информацию о проделанной экспериментальной части работы.

Результаты исследования и обсуждения:

В данном разделе автором были изложены данные исследования в сопровождении с обсуждениями, которые дают исчерпывающее понимание наблюдаемых эффектов.

Выводы:

Основные выводы, представленные в диссертационной работе, являются результатом анализа проделанной работы и дают четкое представление о проделанной работе.

При общей положительной оценке работы, в ходе ознакомления с диссертационной работой Яременко Алексея Владимировича мной были отмечены некоторые комментарии, которые направлены на улучшение качества работы.

Замечания по диссертационной работе:

1. В работе встречаются неточности стилистического характера и небольшие опечатки.
2. В работе нет четкого изложения какие метаболиты наблюдаются при деградации наночастиц.
3. В разделе 3.2.4. нет указания о том, проводилась ли отмывка извлеченных органов от крови перед тем, как они фиксировали с формалином, то же самое касается и пункта 3.10.2., в то время как исследования проводились с детекцией частиц, абсорбированных на эритроцитах.
4. В разделе 3.10.3., посвящённому гематологическому анализу, представлены выборочные параметры крови, которые не включают, к примеру, значения лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, которые могли бы детальнее раскрыть взаимодействие наночастиц на организм. Схожим образом, в разделе 3.10.4., так же представлены выборочные критерии биохимического анализа крови.
5. В литературе встречаются спорные данные о наличии опсонической активности у альбуминов в крови. Насколько данные литературы соотносятся с данными, полученными в перфузируемой модели печени?

Однако данные замечания не снижают ценность работы, которая является законченным научно-исследовательским трудом и содержит важные результаты для дальнейшего исследования магнитных наночастиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании изложенного считаю, что диссертационная работа «Определение биodeградации и токсичности магнитных наночастиц в процессах их взаимодействия с организмом» Яременко Алексея Владимировича соответствует критериям, установленным в

«Положением о присуждении учёных степеней», утвержденным Постановлением правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями Постановлений правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, 29.05.2017 г. №650, 20.03.2021 г. №426, 11.09.2021 г. №1539), а её автор, Яременко Алексей Владимирович, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «молекулярная биология»

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник,
заведующая лабораторией изотопных
исследований Института теоретической и
экспериментальной биофизики Российской
академии наук (ИТЭБ РАН)

Попова Нелли Рустамовна

142290, Россия, Московская обл., г. Пущино,
ул. Институтская 3
Электронная почта: nellipopovaran@gmail.com
Телефон: 8 (4967) 739431

26 декабря 2022 г.

Подпись Поповой Н.Р. заверяю
Ученый секретарь ИТЭБ РАН,
кандидат биологических наук



Перевязова Татьяна Анатольевна