

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Гилевой Анастасии Михайловны

**«Наночастицы для доставки биомолекул и противоопухолевых
лекарств: получение и изучение в 3D модели *in vitro*»,**

*представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по
специальности 1.5.6 – Биотехнология*

Актуальность темы диссертации

Актуальность темы диссертационного исследования не вызывает сомнений и обусловлена высокой потребностью в совершенствовании подходов к противоопухолевой терапии. Наночастицы справедливо рассматриваются как один из наиболее перспективных этапов эволюции современной химиотерапии: они позволяют преодолеть ключевые ограничения традиционных препаратов – низкую водорастворимость, высокую токсичность и недостаточную селективность, обеспечивая адресную доставку действующего вещества и его пролонгированное высвобождение непосредственно в опухолевой ткани.

В научной литературе к настоящему времени описано значительное многообразие систем доставки, однако трансформация перспективных разработок в клинически применяемые препараты остаётся крайне трудоёмким процессом. Как показывает практика, даже наиболее удачные системы доставки в среднем достигают фармацевтического рынка лишь спустя 10–15 лет с момента первоначальной разработки – основная доля этого временного интервала приходится на длительные предклинические и клинические испытания.

В этом контексте особую значимость приобретает внедрение усовершенствованных инструментов предварительной *in vitro* оценки. Представленное в работе использование 3D моделей (в частности, мультিকлеточных опухолевых сфероидов) способно стать ключевым звеном в скрининге новых наночастиц: такие модели достоверно воспроизводят структурно-функциональные особенности солидных опухолей, обеспечивая более корректную оценку накопления, локализации и цитотоксичности носителей. Это повышает достоверность доклинических данных и ускоряет переход к *in vivo* испытаниям, сокращая затраты времени и ресурсов на разработку новых противоопухолевых препаратов.

Содержание диссертации

Диссертация представлена на 180 страницах, содержит 88 рисунков и 32 таблицы. Структура работы соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным исследованиям, и содержит все необходимые разделы (Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и их обсуждение, Выводы, Приложение). Список цитируемой литературы включает 274 источника.

Глава «Обзор литературы» демонстрирует высокую степень проработки предметной области: системно раскрыты базовые терапевтические стратегии в онкологии, последовательно обоснована необходимость таргетной доставки, формализованы критерии отбора наноносителей. Классификация носителей (липидные, полимерные, неорганические) подкреплена релевантными примерами и сравнительными характеристиками. Детально раскрыты направления модификации: от стабилизации до стимул-чувствительных и лиганд-функционализированных систем. Блок по *in vitro*-тестированию включает сопоставительный анализ 2D (монослойная культура клеток) и 3D (мультиклеточные сфероиды) моделей *in vitro* с описанием ключевых методик (метод «висячей капли», суспензионное культивирование, культивирование в матриксах, метод спонтанной самоагрегации, метод RGD-индуцированной самосборки), что обеспечивает методологическую опору для экспериментальной части. Структура главы логична, терминология единообразна, источники репрезентативны, содержание полностью согласуется с целями и задачами исследования.

В главе «Материалы и методы» представлены используемые реактивы и протоколы исследований — включая получение наноносителей, их физико-химическую характеристику и биологическое тестирование. Детальное описание протоколов современных методов обеспечивает воспроизводимость экспериментов и подтверждает владение соискателем указанными методиками.

Глава «Результаты и их обсуждение» отличается чёткой и последовательной структурой, обеспечивающей удобство восприятия материала. В начале главы автор описывает применяемый им подход к формированию мультиклеточных сфероидов и приводит перечень задействованных клеточных линий. Дальнейшее изложение организовано по модульному принципу: глава поделена на отдельные блоки, каждый из которых посвящён одному из разработанных наноносителей. Внутри каждого блока соблюдается единая логика представления данных: сначала

описан способ получения системы доставки, далее приведены её физико-химические параметры, а затем – результаты биологического тестирования в 2D и 3D моделях *in vitro*. Автор не ограничивается демонстрацией экспериментальных данных, а проводит их углублённый анализ, сопоставляя полученные показатели с литературными сведениями и формулируя промежуточные выводы. Завершается каждый раздел кратким заключением, где систематизированы ключевые результаты по конкретному наноносителю, что существенно облегчает усвоение и обобщение информации.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость

В диссертации представлена разработка и комплексное исследование новых систем доставки противоопухолевых агентов. В рамках работы синтезирована и детально изучена линейка новых наноносителей липидной и полимерной природы. Так, впервые получены и охарактеризованы следующие объекты:

- катионные липоплексы с инкапсулированными нуклеиновыми кислотами (миРНК либо плазмидной ДНК), функционализированные новыми производными полиэтиленгликоля;
- керасомы (нейтральные и катионные), обеспечивающие пролонгированное высвобождение доксорубина;
- катионные липосомы с пост-модифицированной поверхностью — с иммобилизованными лигандами фолиевой кислоты и загрузкой доксорубина;
- полиэлектролитные наноконтейнеры на базе комбинаций хитозан/ксантановая камедь либо ДЭАЭ-декстран/ксантановая камедь, содержащие тимохинон и дополнительно модифицированные ПЭГ или полилизинном;
- мультислойные полиэлектролитные капсулы конфигурации (полиаргинин/сульфат декстрана)₃, конъюгированные с лигандом DR5-B и загруженные доксорубином в субтоксичной концентрации.

Особенностью исследования стало системное тестирование всех разработанных наноносителей в 3D моделях *in vitro*. В качестве экспериментальной платформы использованы мультиклеточные опухолевые сфероиды, сформированные по методике индуцированной самосборки клеток с применением циклического RGD-пептида (разработана в ИБХ РАН). Оценка цитотоксичности

выполнена на 10 клеточных линиях (как опухолевых, так и нормальных), при этом осуществлён сопоставительный анализ эффективности носителей в 2D и 3D моделях.

Таким образом, теоретическая и практическая ценность работы не вызывает сомнений: полученные данные расширяют представления о дизайне и функционировании систем адресной доставки лекарств, а разработанные наноносители и методика их тестирования в 3D моделях *in vitro* обладают выраженным потенциалом для дальнейшего внедрения в доклинические исследования.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов диссертации не вызывает сомнений и подкреплена комплексом экспериментальных данных, полученных с применением стандартизированных и валидированных методик, а также статистической обработкой результатов.

Достоверность выводов подтверждается широкой апробацией результатов: основные положения работы представлены в виде 41 устного и постерного доклада на профильных научных конференциях, проходивших в России, Нидерландах, Португалии, Франции, Греции, Бельгии, Италии, Норвегии и других странах.

Высокая научная значимость исследования отражена в публикационной активности соискателя — результаты опубликованы в 17 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus. Среди них работы в журналах с высокими наукометрическими показателями: ACS Applied Materials & Interfaces (IF 9.23, Q1); Materials Science and Engineering C (IF 8.32, Q1); Nanomaterials (Basel) (IF 5.44, Q2); Pharmaceuticals (IF 6.29, Q1); Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (IF 5.79, Q1); International Journal of Molecular Sciences (IF 4.91, Q1). Представленные публикации охватывают ключевые аспекты работы — от синтеза и физико-химической характеристики носителей до их биологической оценки в 2D и 3D моделях *in vitro*, что свидетельствует о всесторонней верификации полученных результатов и обоснованности сформулированных выводов.

К работе имеется ряд замечаний:

1. В работе недостаточно явно обусловлен выбор лекарственных препаратов. Чем обусловлен выбор лекарств, например, доксорубицина и тимохинона?
2. Работа с сфероидными клетками очевидно усиливает биологическую составляющую исследования, однако сопряжена с дополнительными ограничениями. Так, известно, что в центре сфероидов могут формироваться некротические зоны. Такие зоны могут существенно искажать получаемые результаты. Каким образом в вашей работе доказано, что в ваших 3д моделях этого не происходит?

Вышеобозначенные замечания не снижают научную ценность диссертации Гилевой А.М. и в большинстве своём носят рекомендательный характер.

Заключение

Диссертация Гилевой Анастасии Михайловны соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным «Положением о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 № 1539), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Официальный оппонент,
к.х.н., доцент кафедры Химической энзимологии
(Химический факультет) Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»

30 сентября 2026 года / Ле-Дейген Ирина Михайловна /

119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 11Б

Тел. +7 (495) 939-34-29

E-mail: i.m.deygen@gmail.com

