

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Ванеева Александра Николаевича
на тему: «Нанокapиллярные сенсоры для мониторинга клеточных
метаболитов в биологических системах»
по специальности 1.5.6. Биотехнология

Развитие методов молекулярной-медицинской диагностики является неотъемлемой частью совершенствования профилактической и персонифицированной медицины. Оценка концентрации ключевых метаболитов, таких как молекулярный кислород, активные формы кислорода (АФК), а также нейротрансмиттеров в живых организмах в условиях *in vivo*, позволяет выявлять патологические состояния на ранних стадиях различных заболеваний. Таким образом, в настоящее время, остается актуальной проблема определения метаболитов непосредственно в живом организме для диагностики его состояния. В этой связи особое место занимают устройства неинвазивной или малоинвазивной диагностики и мониторинга базовых биохимических показателей и метаболитов организма, а также маркеров развития заболеваний. Для обнаружения клеточных метаболитов в настоящее время применяются различные физико-химические методы: оптические, флуоресцентные, электрохимические, а также подходы, основанные на позитронно-эмиссионной томографии, магнитно-резонансной томографии и спектроскопии. Среди них выделяются электрохимические методы как одни из самых простых, надежных и быстрых.

Диссертационная работа Ванеева А.Н., направленная на разработку электрохимических нанокapиллярных сенсоров для определения метаболитов в единичных живых клетках и биологических моделях *in vitro/in vivo*, несомненно, является актуальной и практически значимой.

В рамках диссертационной работы автором были сформулированы и решены следующие задачи:

- Разработка углеродных электрохимических нанокапиллярных сенсоров с малым временем отклика, пригодных для мониторинга дофамина;
- Разработка высокочувствительного и малоинвазивного платинового наноэлектрода для определения концентрации АФК и молекулярного кислорода, апробация его работы внутри единичных живых опухолевых клеток РС3, 22Rv1, MCF-7 и сфероидов, а также имплантированной мышцы опухоли *in vivo*;
- Определение концентрации АФК в единичных опухолевых клетках и сфероидах под воздействием известных и новых противоопухолевых препаратов, а также определение концентрации АФК внутри нейтрофилов под воздействием *E. coli* и *S. aureus* с помощью разработанного платинового наноэлектрода;
- Разработка метода определения молекулярного кислорода внутри сфероидов различного диаметра, полученных из клеток аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7, а также внутри мозга крысы с использованием платинового наноэлектрода с целью оценки степени гипоксии;
- Разработка электрохимического метода определения соединений Pt (II) внутри живых единичных клеток, сфероидов и опухоли мышцы *in vivo* после воздействия противоопухолевых платиносодержащих лекарственных препаратов с целью оценки эффективности их накопления в биологических моделях *in vitro/in vivo*.

Поставленные в работе задачи полностью соответствуют практически значимым направлениям развития биомедицины и биотехнологии в части развития новых биоаналитических систем для медицинской диагностики и анализа.

Диссертация Ванеева А.Н. посвящена разработке и применению нанокапиллярных электрохимических сенсоров, которые существенно расширяют возможности исследования внутриклеточных и молекулярных процессов. В отличие от традиционных сенсорных технологий, предложенные в работе нанокапиллярные сенсоры демонстрируют значительное преимущество благодаря своей способности проводить малоинвазивные измерения в единичных живых клетках, опухолевых сфероидах и даже внутри опухолевых тканей, что делает их особенно новыми и перспективными для использования в биомедицинских исследованиях.

Положения, выносимые на защиту обоснованы, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и подтверждается литературными данными, апробацией результатов и другими используемыми современными физико-химическими методами анализа. Научная новизна работы заключается в разработке малоинвазивных методов для оценки содержания АФК, молекулярного кислорода и соединений Pt (II) внутри живых единичных клеток, сфероидов и *in vivo* животных моделей с использованием нанокапиллярных сенсоров. Впервые продемонстрирована перспективность электрохимического анализа АФК, молекулярного кислорода и соединений на основе Pt (II) в микросреде опухолевой ткани мышцы. Разработан подход, позволяющий оценить эффективность противораковых препаратов, в том числе инновационных, по степени индуцированной генерации АФК внутри отдельных единичных живых клеток. Данный подход позволяет объективно оценивать потенциал новых лекарственных средств и в дальнейшем оптимизировать их использование в клинической практике.

Диссертационная работа А.Н. Ванеева представляет собой масштабное экспериментальное исследование, изложена на 204 страницах, включает 74 рисунка, 12 таблиц и список цитируемой литературы из 260 ссылок. Работа

построена традиционно - состоит из введения, обзора литературы, разделов, посвященных описанию материалов и методов, обсуждению результатов, заключения, выводов и списка литературы. Выводы работы обобщают проведенные автором исследования и отражают вклад работы в современную науку.

Практическая значимость работы не вызывает сомнения, так как автор разработал высокоэффективные нанокапиллярные сенсоры для определения низких концентраций дофамина, АФК, кислорода и соединений Pt(II) для проведения *in vivo* измерений в единичных живых клетках. Более того, разработанные А.Н. Ваневым подходы и нанокапиллярные сенсоры являются универсальными и могут быть применены для других аналитов.

По диссертации имеются следующие небольшие вопросы и уточнения:

1. При обсуждении процесса травления электродов на ЦВ наблюдается появление пиков, которые автор связывает с изменением геометрии электродов. Не совсем понятно, почему изменение геометрии (образование полостей) приводит к появлению пиков на ЦВ.
Стр.117

2. Как связано образование нанополостей на углеродном электроде с адгезией осаждаемой платины? Стр.118

3. Утверждение автора, что осаждение избыточного количества платины на электрод приводит к его нестабильности и как связано количество центров зародышеобразования с электрохимической активной площадью электрода, нуждается в дополнительном разъяснении.

4. В тексте диссертации отсутствуют пояснения и объяснения к таблице 9.

Однако отмеченные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Работа представляет собой завершённое исследование, изложенное современным научным языком. Основные

результаты диссертационной работы опубликованы в 12 статьях в научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 4 патентах на изобретение и 11 тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях. Стоит особо отметить, что все представленные работы опубликованы в высокорейтинговых журналах, входящих в первый квартиль (по данным Scopus). Все закономерности и выводы, выносимые на защиту, в полной мере отражены в публикациях, являются логичными и научно обоснованными и отличаются научной новизной. Автореферат корректно и информативно описывает проведенное исследование, его результаты и выводы.

Диссертационная работа Ванеева Александра Николаевича «Нанокapиллярные сенсоры для мониторинга клеточных метаболитов в биологических системах» представляет собой пример успешного сочетания междисциплинарного подхода, включающего клеточную биологию, биотехнологию, электрохимию, аналитическую химию и биомедицину. Полученные результаты создают перспективы для широкого использования разработанных подходов и сенсоров в фундаментальных и прикладных исследованиях, включая диагностику, оценку эффективности терапии и изучение молекулярных механизмов заболеваний.

На основании изложенного считаю, что диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ванеев Александр Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.


Официальный оппонент:

доктор химических наук,
заведующий кафедрой коллоидной химии химического факультета
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова»

Сергеев Владимир Глебович

26.11.2024

Контактные данные:

тел.: 7(495)939-10-31, e-mail:  sergeyev@genebee.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

02.00.06 - Высокомолекулярные соединения

Адрес места работы:

119991, Россия, Москва, ул. Ленинские Горы, д.1, стр.3.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени
М. В. Ломоносова», Химический факультет

тел.: 7(495)939-10-31, e-mail: sergeyev@genebee.msu.ru

Подпись сотрудника химического факультета федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный университет имени М. В.
Ломоносова» В.Г. Сергеева удостоверяю: