

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Гудковой Виктории Родионовны
на тему: «Гибридные системы для доставки фотосенсибилизаторов на
основе наноалмазов»
по специальности 1.5.2. Биофизика**

Актуальность темы

Диссертационная работа Гудковой Виктории Родионовны посвящена разработке и детальному изучению гибридных систем для доставки фотосенсибилизаторов на основе наноалмазов. Фотодинамическая терапия является крайне перспективным методом лечения онкологических заболеваний, в настоящее время этот подход активно развивается. В ее случае проявляется значительно меньшее количество нежелательных побочных эффектов, чем, например, при химиотерапии. В настоящее время ведется активный поиск как самих фотосенсибилизаторов, производящих АФК при поглощении света, так и способов их доставки в раковые клетки. В работе Виктории Родионовны предлагается новый подход по доставке фотосенсибилизаторов фталоцианинов в раковые клетки при помощи их иммобилизации на наноалмазах. Работа представляется крайне актуальной и перспективной в плане практического применения. Более того, Виктория Родионовна для выполнения работы разработала и опробовала новый источник освещения для тестирования подходов фотодинамической терапии.

Научная новизна работы

В диссертационной работе Виктории Родионовны детально исследованы механизмы взаимодействия нескольких типов наноалмазов и нескольких вариантов фталоцианинов, показано, что их взаимодействие может осуществляться по разным механизмам, включая π - π стекинг и электростатические взаимодействия. При этом, в случае π - π стекинга происходит тушение флуоресценции фталоцианина, что приводит к снижению эффективности фотодинамической терапии. Напротив, в случае

доминирования электростатических взаимодействий между наноалмазами и фталоцианинами, тушения флуоресценции не происходит.

Апробация результатов

По теме диссертации автором опубликовано 4 статьи в журналах, индексируемых Web of Science и RSCI. Результаты работы апробированы на семинарах лаборатории физико-химии биомембран и на российских и международных конференциях.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 80 ссылок на первоисточники. Работа изложена на 96 страницах, содержит 28 рисунков.

Введение

Во «Введении» автор кратко излагает актуальность темы и степень ее изученности, показывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, четко формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту. Также описаны методология работы, личный вклад соискателя, степень достоверности и апробация результатов.

Цель, задачи работы и положения, выносимые на защиту

Цель исследования и задачи сформулированы достаточно корректно и отражают различные аспекты комплексного исследования.

Обзор литературы

Раздел «Обзор литературы» подробно и ясно описан. В Обзоре литературы приведено достаточно развернутое описание биофизических механизмов, лежащих в основе фотодинамической терапии, их достоинств и недостатков при применении этого подхода в практике. Кроме того, Виктория Родионовна детально описала подходы к синтезу наноалмазов, особенности их биофизических характеристик, делающие их удобным инструментом для

доставки фотосенсибилизаторов в раковые клетки, а также имеющийся опыт применения наноалмазов в биологии и медицине.

Повествование выстроено в логичную и последовательную картину, четко показано, какие аспекты фотодинамической терапии понятны на сегодняшний день, а по каким из них остаются вопросы. Изложение данных логично подводит к вопросам, поставленным в данной диссертационной работе. Автор обращает внимание на недостаточную эффективность имеющихся на сегодняшний день подходов фотодинамической терапии, что обосновывает необходимость детального дальнейшего изучения этой проблемы.

В Обзоре литературы достаточное количество иллюстративного материала, при этом все изображения полностью соответствуют излагаемому материалу. Изображения достаточно понятные, информативные и аккуратные. Обзор литературы написан хорошим, понятным языком.

Материалы и методы

Раздел «Материалы и методы» содержит достаточно подробное для понимания экспериментов описание методов, примененных в работе, используемых клеточных культур, разработанных экспериментальных установок и подходов к обработке полученных результатов. Для решения поставленных задач автором был освоен большой спектр биофизических и ряд клеточно-биологических методов. Методы адекватны поставленным задачам, позволили ответить на большинство поставленных вопросов.

Результаты экспериментов

Раздел «Результаты» состоит из 4 основных разделов (которые, тем не менее, нумеруются с 1 по 5) и 9 подразделов, соответствующих последовательным этапам исследования, и хорошо иллюстрирован. В целом, раздел Результаты выстроен логично. В нем постепенно и доказательно проводится исследование поставленных вопросов, решение предыдущих задач приводит к логичной постановке новых. Некоторые недостатки

полученных при помощи отдельных методов результатов хорошо компенсируются широким методическим арсеналом и разнообразием примененных методов, результаты которых сходятся в целостную картину.

Заключение и выводы

Разделы «Заключение» и «Выводы» кратко и емко суммируют полученные в данной работе результаты.

Выводы в полной мере отражают полученные результаты работы и соответствуют поставленным задачам.

Несмотря на хорошо выполненное исследование и его представление, к работе имеется некоторое количество замечаний и вопросов:

1. На стр. 15 указано, что "Далее при облучении светом происходит нарушение целостности лизосом и выход фотосенсибилизаторов в цитозоль. В некоторых случаях это приводит к повреждению тубулина...". Хотелось бы ссылку. Каким образом ФС повреждают прицельно тубулин. Да еще и все его молекулы, чтобы сделать невозможным сборку микротрубочек в клетке. Если же это неспецифическое действие на все белки клетки, то стоит прямо так и писать.

2. В разделе 3.5.6 и на Рис. 20 показано изменение ζ -потенциала комплекса наноалмаза и фталоцианина по сравнению со свободным наноалмазом. При этом уже низкое соотношение Фц:НА показало кардинальное изменение ζ -потенциала. Автор предполагает, что это связано с тем, что все положительно заряженные группы на наноалмазе при таком соотношении заняты. Автор попытался провести титрование НА фталоцианином, но дальнейшее повышение концентрации последнего не привело к изменениям ζ -потенциала. Это означает, что Автор не попал в пределы границ титрования наноалмазов фталоцианинами. Автору следовало снизить соотношение Фц:НА для получения кривой насыщения наноалмазов

фталоцианином. Если бы кривая насыщения оказалась бы не соответствующей кривым насыщения оснований кислотами, то это означало бы, что причины изменения ζ -потенциала системы не связаны непосредственно с классическими электростатическими взаимодействиями заряженных групп наноалмаза и фталоцианина.

3. Раздел 3.5.7 Забавная логическая цепочка: "Так как основным практическим применением фталоцианинов является генерация АФК <...>, необходимо выяснить, влияет ли взаимодействие с наноалмазами за счёт электростатических сил на флуоресценцию фталоцианинов."

4. Раздел 3.5.7 материал, изложенный в тексте, прямо противоречит данным, приведенным в разделе 3.5.4. В разделе 3.5.4. указывается, что связывание с НА тушит флуоресценцию Фц, тогда как в разделе 3.5.7 - что нет. В тексте не уточняется, что речь идет о различных вариантах наноалмазов и фталоцианинов. Такие подробности можно увидеть только в подписях к рисункам.

5. В разделе 3.5.8 по какой причине все тесты производились с цинковым фталоцианином с холиниловыми заместителями (ZnPcChol+8), а не с цинковым Фц с карбоксильными заместителями (ZnPc-16), если ранее была показана малая применимость первого из-за тушения флуоресценции и генерации АФК в результате π - π стекинга с наноалмазами?

6. В разделе 3.5.8 указывается, что "Полученные результаты убедительно доказывают, что основной механизм цитотоксичности связан именно с фотоиндуцированной генерацией АФК". При этом Автором была зарегистрирована только корреляция производства фталоцианинами АФК и клеточной гибели. Не было показано, что фталоцианин вызывает гибель клеток именно из-за генерации АФК. Для демонстрации причинно-следственной связи необходимо было добавить антиоксиданты на фоне облучения клеток в присутствии Фц.

7. Рис. 23Б необходимо привести полную временную развертку наблюдений за клетками при регистрации H2DCFDA. Хорошо известно, что

флуоресцентные красители сами по себе являются источниками АФК. Это является главным ограничением применения таких красителей на АФК, как H2DCFDA. При долгом освещении они сами производят АФК, которые же и регистрируют. Соответственно, полная временная развертка съемки H2DCFDA в контрольных условиях крайне важна. При этом близкий по смыслу контроль приведен на Рисунке 23В, но в тексте не процитирован. На этом рисунке не хватает контроля долговременной съемки сигнала H2DCFDA в отсутствие фталоцианинов.

8. На Рис. 24,А не указано, имеются ли где-то достоверные изменения выживаемости клеточных линий при действии на них НА и ГС. При этом очевидна большая разница между представленными столбиками. В тексте указывается, что проявляется усиление эффекта фталоцианина только при соотношении Фц:НА 387, но достоверно ли данное различие, не указано.

9. Очень большое количество опечаток, грамматических ошибок и несогласованных оборотов. Плохо вычитанный текст.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено 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 Гудкова Виктория Родионовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
Доцент факультета фундаментальной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Петр Алексеевич Тюрин-Кузьмин

«5» декабря 2025 г.

Контактные данные:

тел.:  mail: tyurinkuzminpa@my.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

1.5.5 – Физиология человека и животных (биол. науки)

Адрес места работы:

119991, г. Москва, Ломоносовский просп., д. 27 корп. 10

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,
Медицинский научно-образовательный институт, факультет фундаментальной медицины
Тел.: +7 (909) 687-11-00, e-mail: tyurinkuzminpa@my.msu.ru

Подпись сотрудника Тюрин-Кузьмина П.А. удостоверяю:

ученый секретарь факультета

фундаментальной медицины МНОИ

МГУ имени М.В. Ломоносова, д.м.н.

Лия Ниязовна Щербакова

Декан ФФМ МНОИ

МГУ имени М.В. Ломоносова,
академик РАН

Ткачук