

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, доцента Амстиславской Тамары Геннадьевны на диссертационную работу Коловской Ольги Сергеевны «Адресная коррекция опухолевых процессов многофункциональными молекулярными конструкциями с распознающими элементами – ДНК-аптамерами», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия в диссертационный совет Д 24.1.242.02 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

Обоснование актуальности исследования

Диссертационная работа посвящена актуальной в биологии и медицине проблеме – разработке способов адресной диагностики и терапии злокачественных новообразований. Несмотря на разнообразие методов диагностики злокачественных новообразований и препаратов противоопухолевой терапии, рост числа онкологических заболеваний среди трудоспособного населения, характеризующихся высоким уровнем летальности, неуклонно растет. Нерешенность проблемы недостаточной эффективности ранней диагностики и противоопухолевой терапии диктует необходимость разработки новых нестандартных подходов к созданию препаратов и методов ранней диагностики и противоопухолевой терапии. Становится все более очевидным, что эффективное решение этой проблемы может быть достигнуто только с помощью создания нанопрепаратов, конъюгированных с молекулярными распознающими лигандами, для адресной их доставки к опухолевым клеткам.

В последнее время стало понятно, что наиболее подходящими характеристиками для адресного нацеливания на опухоль являются аптамеры нуклеиновых кислот – функциональные аналоги моноклональных антител. Немаловажным преимуществом ДНК/РНК-аптамеров по сравнению с белковыми антителами является то, что эти молекулы производятся

химически в легко масштабируемом процессе, их синтез не подвержен вирусному или бактериальному загрязнению, они неиммуногенны и нетоксичны. Малые размеры аптамеров позволяют им эффективно проникать в любые опухоли, они обратимо денатурируют с восстановлением нужной конформации, и, кроме того их можно химически модифицировать без нарушения нужной конформации. При этом производство аптамеров примерно в 100 раз дешевле, чем производство моноклональных антител.

Диссертационное исследование Коловской О.С. посвящено получению и использованию ДНК-аптамеров для диагностики и терапии онкологических заболеваний. Таким образом, актуальность работы не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

Научная новизна представленной работы заключается в том, что впервые были получены ДНК-аптамеры, высокочувствительные и высокоспецифичные асцитным клеткам карциномы Эрлиха (АКЭ). Показано, что с помощью радиофармпрепарата $^{11}\text{CH}_3\text{-AS14}$ на основе аптамеров к клеткам АКЭ, адресно связывающегося с асцитными клетками, можно *in vivo* выявлять опухолевые очаги и их метастазы методом ПЭТ/КТ. Впервые получены комплексы золотых наночастиц с ДНК-аптамерами к асцитным клеткам, способные *in vivo* осуществлять адресную плазмонную фототермическую терапию карциномы Эрлиха. Впервые показано, что дистанционно управляемые биобезопасным низкочастотным переменным магнитным полем ферроарабиногалактаны, магнитные наночастицы и трехслойные магнитные нанодиски (Au/Ni/Au) с квазидипольной структурой, функционализированные ДНК-аптамерами к асцитным клеткам, способны осуществлять целевое разрушение асцитной карциномы Эрлиха *in vivo*. И, кроме того, показано, что ДНК-аптамеры к асцитным клеткам способны *in vivo* доставлять стандартные противоопухолевые препараты циклофосфамид и цисплатин к опухолевым клеткам для эффективного разрушения опухолевых очагов.

Практическая значимость исследования

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что автору удалось оптимизировать и модифицировать метод селекции ДНК-аптамеров к клеткам злокачественных опухолей и создать на их основе наноконструкции для диагностики и терапии онкологических заболеваний. Разработанные технологии получения наноконструкций для адресной доставки средств терапии могут стать теоретической основой для создания противоопухолевых препаратов к другим злокачественным новообразованиям. Полученные аптамеры используются в научно-исследовательской работе в лаборатории биомолекулярных и медицинских технологий на базе КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России и лаборатории цифровых управляемых лекарств и терапии ФИЦ КНЦ СО РАН для создания средств терапии рака легкого и глиобластомы. Результаты исследования имеют большое практическое значение, так как позволяют по разработанной методологии получать наноконструкции для диагностики и противоопухолевой терапии злокачественных новообразований.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена в традиционном стиле на 287 страницах, иллюстрирована 6 таблицами и 89 рисунками. Во введении убедительно обосновывается актуальность исследований, цели, задачи, положения, выносимые на защиту. Обзор литературы представляет собой анализ проведённых к настоящему времени исследований по теме диссертации. При анализе литературных данных автором проделана большая работа по описанию наноматериалов для диагностики и терапии онкологических заболеваний, использующихся для адресной доставки к опухолевым клеткам, свойствам и селекции аптамеров. На основании сделанного анализа была определена актуальность и поставлена цель диссертационного исследования, которая заключается в разработке подходов к эффективной и

малоинвазивной диагностике и терапии онкологических заболеваний, основанных на многофункциональных молекулярных конструкциях с адресными распознающими элементами – ДНК-аптамерами.

Для достижения цели автором поставлены и решены 5 задач. Положения, выносимые на защиту, обосновывают концептуальную основу диссертации и состоят из 5 пунктов. Во второй и третьей главе диссертации представлены методы исследования, свойства аптамеров и наноконструкций на их основе для диагностики и терапии онкологических заболеваний, а также описаны результаты исследования биосовместимости противоопухолевых препаратов. Для селекции и исследования противоопухолевых свойств наноконструкций были использованы современные методы исследования.

План выполнения работы соответствует цели и задачам исследования. В главе Заключение Коловская О.С. обсуждает полученные в диссертационном исследовании результаты и делает выводы о получении в работе нетоксичных биосовместимых бионаноконструкций, позволяющих увеличить эффективность и снизить токсичность стандартных препаратов противоопухолевой химиотерапии путем их адресной доставки к опухолевым очагам, осуществить адресную деструкцию опухоли с помощью золотых наночастиц методом гипертермии, а с помощью магнитного наноскальпеля разрушить опухолевые очаги методом магнитомеханической терапии в низкочастотном переменном магнитном поле.

Степень обоснованности научных положений, выводов

Выводы и практические рекомендации автора диссертации основаны на большом объеме экспериментального материала. Результаты исследования научно обоснованы и получены на современном оборудовании с использованием стандартизированных методик и программ. Секвенирование последовательностей аптамеров было проведено «Génotype Québec Innovation Centre» (Канада). Последовательности аптамеров были

синтезированы «Integrated DNA Technologies» (США). Результаты проанализированы с помощью программного обеспечения: Kaluza 1.1, MaxQuant 1.3, SIMCA, FlowJo, FlowingSoftware 2.5.1, Microsoft Excel 2007, Origin 6.0, базе данных UniProtKB/Swiss-Prot. Результаты работы опубликованы в рецензируемых журналах и представлены на всероссийских и международных конференциях.

Внедрение результатов диссертации

ДНК-аптамеры и разработанные на их основе наноконструкции используются при создании новых диагностических систем и терапевтических средств для диагностики и лечения глиобластомы головного мозга человека и рака легкого человека в лаборатории биомолекулярных и медицинских технологий (БиоМeТ) в КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск, Россия) и лаборатории управляемых цифровых лекарств и терапии ФИЦ КНЦ СО РАН (г. Красноярск, Россия).

Полнота публикаций в печати

Основное содержание диссертационного исследования достаточно полно отражено в 19 научных работах соискателя, в том числе в 7 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, 12 публикациях в зарубежных изданиях, в том числе, одной зарубежной монографии и одном патенте. Основные положения диссертации были неоднократно доложены и обсуждены на российских и международных конференциях.

Отмечая несомненную новизну полученных в диссертации результатов исследования, хотелось бы возразить против механистического описания механизма противоопухолевого магнитомеханического воздействия на опухолевую клетку с помощью магнитных наночастиц. На наш взгляд, анализ экспериментально полученных результатов, представленных в работе, является предварительным и требует дальнейших исследований.

В целом диссертация охватывает все основные вопросы поставленной научной проблемы адресной диагностики и терапии злокачественных новообразований и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается непротиворечивостью методологической базы, последовательностью в используемых приемах и методах анализа, концептуальностью и взаимосвязанностью выводов.

Однако некоторые положения, на наш взгляд требуют дополнительного разъяснения. В частности,

- (1) в работе необходимо было более подробно представить механизмы деструкции опухолевых клеток под влиянием магнитомеханического воздействия;
- (2) необходимо точно определить количество магнитных нанодисков, достаточное для разрушения одной опухолевой клетки, что важно для практического применения предлагаемого способа противоопухолевой терапии;
- (3) в работе отсутствует описание того, как подбирались наиболее оптимальные характеристики магнитного поля для полного разрушения опухолевого очага.

Однако, в целом замечаний по содержанию диссертации, форме и способу изложения нет, и высказанные вопросы и замечания ни в коей мере не снижают общего положительного впечатления о работе.

Заключение

Диссертационная работа Коловской Ольги Сергеевны на тему «Адресная коррекция опухолевых процессов многофункциональными молекулярными конструкциями с распознающими элементами – ДНК-аптамерами» полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от

21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.08.2017г., №1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, доцент,
заведующая лабораторией трансляционной
биopsихиатрии Научно-исследовательского
института нейронаук и медицины

АМСТИСЛАВСКАЯ Тамара Геннадьевна

Контактные данные:

Тел.: +7(383) 373-01-85; e-mail: amstislavskayatg@neuronm.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация: 03.00.13 - Физиология

Адрес места работы:

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины

Тел.: +7 (383) 335-98-55; e-mail: inm@neuronm.ru

Подпись
Начальник



16.05.2023г.