

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Кондаковой Ирины Викторовны 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 24.1.242.02 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

Актуальность темы диссертации. Злокачественные новообразования до настоящего времени остаются одной из лидирующих причин смертности населения в России и в мире. Несмотря на развитие новых методов диагностики онкологических заболеваний и противоопухолевой терапии, доля смертельных исходов от числа всех злокачественных новообразований составляет 40%. Ведущими методами локальной терапии злокачественных новообразований остаются хирургия и лучевая терапия, основным недостатком которых является их высокая инвазивность. Как хирургическое вмешательство, так и радиотерапия повреждают окружающие опухоль здоровые ткани. Поэтому важной задачей биологии и медицины остается разработка новых методов таргетной диагностики и терапии опухолей. Основным подходом в реализации этой концепции является использование высокоаффинных молекулярных распознающих элементов, способных адресно воздействовать только на патологический очаг. Благодаря прогрессу в области молекулярной биологии появились принципиально новые подходы для разработки таких распознающих свою мишень лигандов. Это связано с разработкой новой перспективной технологии SELEX, позволяющей осуществлять направленный отбор олигонуклеотидов, обладающих способностью связываться с разнообразными биологическими мишениями и, таким образом, выполнять роль искусственных антител. Разработка

молекулярных распознающих опухоль лигандов и использование их для диагностики и терапии стало предметом диссертационной работы О.С. Коловской, поэтому актуальность работы не вызывает сомнений.

Цель диссертационной работы – разработать подходы к эффективной и малоинвазивной диагностике и терапии онкологических заболеваний, основанные на многофункциональных молекулярных конструкциях с адресными распознающими элементами – ДНК-аптамерами. Для достижения поставленной цели было определено пять задач, успешно выполненных в ходе проведенного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. По результатам проведенного исследования автором вынесено на защиту пять положений, суммированных в девяти выводах.

Положение 1 направлено на доказательство высокой аффинности и специфичности разработанных автором ДНК-аптамеров к асцитным клеткам карциномы Эрлиха.

Положение 2 подтверждает, что полученные ДНК-аптамеры аффинно и специфично связываются со своими мишениями *in vivo*, что показано с помощью стандартных клинических методов (ПЭТ/КТ и МРТ).

В Положении 3 приведены экспериментальные подтверждения того, что плазмонная фототермическая терапия золотыми наночастицами, функционализированными ДНК-аптамерами к асцитным клеткам карциномы Эрлиха (AS42-AuНЧ), разрушает солидные опухоли *in vivo*.

В Положении 4 показан *in vivo* противоопухолевый эффект адресной магнитомеханической терапии с помощью дистанционного управления магнитными наночастицами, функционализированными ДНК-аптамерами, в переменном магнитном поле.

В Положении 5 представлено доказательство высокой противоопухолевой эффективности адресной доставки ДНК-аптамерами препаратов химиотерапии. Кроме того, показано, что все противоопухолевые

препараты на основе ДНК-аптамеров обладают высоким уровнем биосовместимости и низкой степенью токсичности.

В целом, большой объем проведенной экспериментальной работы позволил автору в должной степени обосновать все научные положения, выносимые на защиту. Выводы, сформулированные в диссертации, соответствуют положениям, выносимым на защиту и отражают ключевые результаты, полученные в диссертации. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. Результаты получены на современном оборудовании с использованием стандартизованных методик и программ, опубликованы в рецензируемых журналах и представлены на всероссийских и международных конференциях.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Достоверность результатов основывается на продуманном дизайне работы, достаточном объеме материала, современном и адекватном методическом уровне, корректных способах статистической обработки данных. Работа характеризуется рядом новых фактов, научных положений и выводов. Впервые получены высокочувствительные к асцитным клеткам карциномы Эрлиха ДНК-аптамеры, которые были использованы для получения средств диагностики и противоопухолевой терапии *in vivo* на экспериментальных животных. Показано, что использование ДНК-аптамеров увеличивает специфичность и чувствительность стандартных (ПЭТ/КТ и МРТ) методов диагностики опухолевого процесса. К особо важным результатам следует отнести использование ДНК-аптамеров для эффективной адресной дистанционной терапии опухолевых очагов с помощью магнитных наночастиц в условиях низкочастотного переменного магнитного поля. Впервые ДНК-аптамеры к асцитным клеткам были использованы для адресной доставки таких высокотоксичных препаратов химиотерапии как цисплатин и циклофосфамид, что увеличило их эффективность и снизило

токсичность. Таким образом, научная новизна диссертации не вызывает сомнений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в оптимизации и модификации метода селекции ДНК-аптамеров к клеткам злокачественных опухолей и создании на их основе наноконструкций для диагностики и терапии онкологических заболеваний. Разработанные технологии получения наноконструкций для адресной доставки средств терапии создают теоретическую основу для создания противоопухолевых препаратов. Полученные аптамеры и технологии их получения 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 тераностики ФИЦ КНЦ СО РАН для создания средств тераностики рака легкого и глиобластомы.

Общая характеристика работы. Оценка содержания работы, ее завершенности и оформления. Диссертация написана по традиционной схеме, состоит из введения, литературного обзора, описания объектов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения и выводов. Работа изложена на 287 страницах, иллюстрирована 89 рисунками и 6 таблицами. Список литературы включает 352 источника, из них 4 отечественных и 348 зарубежных.

Во «Введении» изложена суть проблемы и обоснованы ее актуальность, цель и задачи исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, описаны научная новизна, научно-практическая значимость, собственный вклад в работу, приведены данные об апробации результатов исследования. Данная часть диссертации четко соотносится с выводами, сделанными в конце работы на основании анализа полученных результатов.

В «Обзоре литературы» изложены современные представления о ДНК-аптамерах и наноконструкциях для наномедицины на их основе. Эта часть

работы позволила автору охарактеризовать всю проблему в целом и логически обосновать цель и задачи исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» квалифицированно и достаточно подробно описаны основные методические подходы к селекции аптомеров и получению на их основе противоопухолевых наноконструкций. Адекватность методических приемов не вызывает сомнений. В отдельном подразделе описаны статистические методы исследований.

В главе «Результаты и их обсуждение» приводится описание полученных в результате селекции ДНК-аптамеров, анализируются их конформация и свойства. Представлены потенциальные молекулярные мишени ДНК-аптамеров. Кроме того, описываются свойства противоопухолевых и диагностических наноконструкций на основе аптомеров и применение их в качестве диагностических и терапевтических средств.

Диссертация завершается общим «Заключением», где подводятся итоги выполненных исследований. Сделанные выводы логически вытекают из результатов и полностью соответствуют положениям, вынесенным на защиту.

Публикация результатов. Материалы диссертации представлены в 19 научных работах, 12 – в зарубежных журналах, 7 – в российских журналах, рекомендованных ВАК, 1 патенте.

Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают основные положения диссертации.

В целом, представленная диссертация хорошо структурирована и логично построена; полученные данные содержат новые научные результаты и свидетельствуют о существенном личном вкладе автора диссертации в науку. Диссертация написана хорошим научным языком, экспериментальный материал удачно иллюстрирован.

Работа не вызывает значительных замечаний по форме, способу изложения или содержанию. Тем не менее, по итогам ознакомления с диссертацией, возник ряд вопросов, требующих разъяснения.

Замечания и вопросы:

- 1) В работе описано, что при селекции ДНК-аптамеров использовались методы секвенирования, однако не представлено, каким образом и каким математическим аппаратом пользовались для выбора наиболее аффинных и специфичных олигонуклеотидов из полученного сиквенса.
- 2) Для идентификации молекулярных мишеней давно и успешно используют белковые антитела. Чем искусственные антитела на основе нукleinовых кислот лучше? Назовите преимущества аптамеров.
- 3) Объясните механизм гибели опухолевых клеток при магнитомеханической дистанционной терапии с помощью наноконструкций на основе аптамеров.

Следует отметить, что заданные вопросы ни в коей мере не снижают общего положительного впечатления о работе.

Заключение

Диссертация О.С. Коловской является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение актуальной научной проблемы адресной коррекции опухолевых процессов с помощью молекулярных распознающих элементов на основе ДНК-аптамеров. Разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное достижение, заключающееся в предложении концептуального подхода к разработке новых технологий адресной терапии онкологических заболеваний, имеющее существенное значение для развития биохимии. По актуальности поднятой проблемы, по примененному комплексу методов, объему материала, научной и практической значимости, новизне и достоверности результатов диссертационная работа Коловской Ольги

Сергеевны «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., №1539 от 11.09.2021г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией биохимии опухолей Научного исследовательского института онкологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Кондакова Ирина Викторовна

«28» апреля 2023 года

Подпись Кондаковой И.И.
«УДОСТОВЕРЯЮ:

Ученый секретарь Федерального
учреждения «Томский национальный
медицинский центр Российской академии наук», ка-

зенного бюджетного научного
исследовательского медицинского центра
медицинских наук



Хитринская И.Ю.

Контактные данные: Тел.: 8 (3822) 28-26-52
Специальности, по которым официальным оппонентом защищена диссертация: 14.00.14 – онкология, 14.00.16 – патологическая физиология.

Адрес места работы: 634009, г.Томск, пер. Кооперативный, 5
Научно-исследовательский институт онкологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тел.: 8 (3822) 51-10-39; e-mail: onco@tnimc.ru