

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Якубовской Раисы Ивановны на диссертационную работу **Рыбкина Александра Юрьевича** на тему **«Фотофизические и фотодинамические свойства водорастворимых гибридных структур фуллерен-краситель»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Актуальность темы исследования.

В настоящее время все большее распространение в медицине находят новые методы лечения, использующие достижения в области фотохимии, фотобиологии и квантовой физики. Особенно успешно в онкологии развивается метод фотодинамической терапии (ФДТ), основанный на разрушении опухолевого очага активными свободнорадикальными частицами, возникающими в результате взаимодействия фотоактивного соединения - фотосенсибилизатора (ФС), аккумулировавшегося в опухоли, с лазерным излучением определенной длины волны.

Клинические испытания, проведенные к настоящему моменту, свидетельствуют об эффективности метода ФДТ при тяжелых дисплазиях, начальных поверхностно расположенных опухолях различных локализаций, первичных раках у некурабельных больных с тяжелой сопутствующей патологией, в случаях функциональной нерезектабельности опухолей при первично-множественном поражении, а также при рецидивах опухолей после хирургического, комбинированного и других видов противоопухолевого лечения. Появились сообщения об успешном применении ФДТ при внутриорганных опухолях печени, поджелудочной железы, плевры – патологиях, наиболее эффективным методом лечения которых до сих пор является хирургический. Внедрение в клиническую практику метода ФДТ позволило существенно расширить диапазон оказания радикальной и паллиативной помощи онкологическим больным.

В настоящее время метод ФДТ успешно развивается и в других областях медицины: дерматологии, офтальмологии, антимикробной терапии, стоматологии и др.

Перспективность метода ФДТ стимулирует очень динамичное развитие экспериментальных исследований в этой области, как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте. В первую очередь, это связано с поиском новых растворимых фотосенсибилизаторов, поглощающих свет в длинноволновой области и быстро элиминирующихся из организма, что позволяет более эффективно и безопасно применять

этот новый метод при лечении больных с различными заболеваниями .

Все вышеизложенное делает тему диссертационной работы Рыбкина Александра Юрьевича, посвященной исследованию фотофизических и фотодинамических свойств структур на основе фуллерена и красителя с целью создания фотосенсибилизаторов нового типа для фотодинамической терапии, важной и актуальной.

Общая характеристика работы

Диссертация Рыбкина А.Ю. изложена в традиционном монографическом стиле на 167 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5-ти глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа очень хорошо иллюстрирована. Она содержит 38 рисунков и 10 таблиц. Список литературы включает 270 цитируемых научных работ.

Во введении автор логично обосновывает актуальность темы, цели и задачи исследования, приводит данные о научной новизне и практической значимости работы.

Глава I «Обзор литературы» состоит из 3-х подглав и включает описание молекулярных механизмов действия фотодинамической терапии и современных требований к фотосенсибилизаторам (1.1), анализу фотофизических и биологических свойств фуллерена и его производных, механизмов их фотодинамического действия (1.2), а также всестороннему обсуждению свойств гибридных структур фуллерен-краситель (1.3). Обзор полно отражает современные представления в данной области знаний, четко изложен, с интересом читается. Однако, на наш взгляд, эта глава необоснованно велика (53 страницы), но при этом механизмы действия фотодинамической терапии (ФДТ) рассмотрены односторонне. Так, прямому противоопухолевому эффекту , вклад которого в эффективность ФДТ оценивается не более, чем на 30-40%, уделяется много внимания, в то время как опосредованный противоопухолевый эффект за счет ишемии в результате повреждения сосудов и тромбообразования, являющийся ведущим в реализации эффективности ФДТ, лишь упоминается.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» автор приводит общую подробную характеристику объектов, а также методов исследования.

Примененный автором широкий спектр биофизических методов исследования (абсорбционная, стационарная и кинетическая флуоресцентная спектроскопия в водных и в модельных органических средах, разнообразные методы оценки фотоактивности изучаемых структур) свидетельствуют о высоком научно-техническом уровне работы, ее оригинальности и адекватности полученных результатов.

Главы 3,4 и 5 посвящены результатам собственных исследований.

В главе 3 автор описывает структуры нековалентных и ковалентных комплексов фуллерен-краситель (т.н. диады фуллерен-краситель), приводит их фотофизические и фотоиндуцирующие свойства, показывает принципиальную возможность усиления фотоактивности красителя за счет объединения его с фуллереном и доказывает, что данное усиление происходит за счет эффективного тушения синглетных возбужденных состояний красителя ядром фуллерена, предположительно по механизму переноса возбуждения или электрона.

Глава 4 посвящена детальному сравнительному изучению фотофизических свойств и фотодинамической активности нековалентных комплексов фуллерен-краситель и ковалентных диад фуллерен-краситель в модельной среде бислойных мембран лецитиновых липосом. Эти исследования продемонстрировали безусловные преимущества ковалентных комплексов как фотостабильных агентов, что позволили сделать выбор перспективных структур и перейти к этапу их изучения на биологических моделях.

В главе 5 диссертант приводит результаты исследования фотодинамического действия ковалентных диад фуллерен-краситель на кольцевую ДНК плазмиды pET и на культуру опухолевых клеток HeLa. Показана способность диад вызывать как одно, так и двуцепочечные разрывы ДНК при облучении светом в полосе поглощения красителя. Обнаружена способность поликатионной диады фуллерен-флуоресцеин вызывать гибель клеток HeLa при облучении светом в полосе поглощения красителя. При этом фотоактивность данной диады превосходит таковую для исходного поликатионного производного фуллерена «более чем в три раза». При используемом автором варианте эксперимента с отмывкой среды культивирования при изучении фотоактивности диады фуллерен-флуоресцеин получены косвенные данные о ее проникновении в мембрану или внутрь опухолевой клетки, что свидетельствует о наличии выраженных мембранотропных свойств диады.

К сожалению, автором не приведены данные по противоопухолевой эффективности диады в соответствии с общепринятыми международными единицами, выраженными в величинах ИК₅₀%.

В главе «Заключение» автор суммирует полученные им результаты, которые позволили ему сделать приведенные в его работе выводы.

Выводы содержат основные результаты работы, они научно обоснованы и соответствуют поставленным целям и задачам диссертации.

Оценка содержания работы, ее оформление и завершенность

Содержание работы, ее оформление и завершенность заслуживают положительной оценки. Оформление диссертации удовлетворяет требованиям ВАК РФ. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Полнота изложения материалов диссертации в печатных работах

По теме диссертации автор имеет большое количество публикаций (16 работ), из них 4 статьи в рекомендуемых ВАК зарубежных и отечественных журналах, а также две главы в монографиях.

Практическая значимость результатов диссертации

Важным результатом работы для ее дальнейшего практического приложения является заключение автора о возможности модификации структуры красителей путем их ковалентной конъюгации с растворимыми производными фуллерена с получением высокоэффективных фотоактивных мембранотропных структур, стабильных в биологических средах. Это в значительной степени расширяет границы возможного поиска лекарственных средств с фотосенсибилизирующими свойствами на основе гидрофобных структур, поглощающих в длинноволновой области.

Общие замечания.

Имеющиеся в работе отдельные недостатки не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение.

Таким образом, задачи, поставленные в работе, были полностью решены, использованные методы исследования современны и адекватны поставленным задачам. Объем проделанной автором экспериментальной работы соответствует требованиям, предъявляемые к кандидатским диссертациям. Выводы диссертации научно обоснованы, основные положения работы изложены в автореферате и опубликованных работах. Научная новизна и практическая значимость не вызывают сомнений.

Работа Рыбкина А.Ю. представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполненное на высоком техническом уровне и с использованием самых современных методов.

Диссертационная работа «Фотофизические и фотодинамические свойства водорастворимых гибридных структур фуллерен-краситель» и ее автореферат соответствуют всем требованиям Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика, а ее автор, Рыбкин А.Ю., несомненно, заслуживает присуждения ему искомой ученой степени.

Отзыв направляется в Диссертационный совет Д 501.001.96 при биологическом факультете Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова.

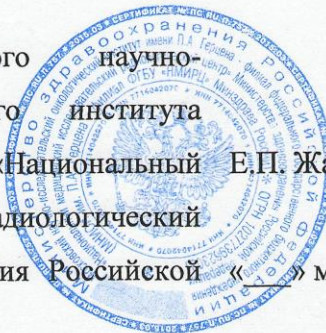
Руководитель отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (125284, Москва, 2-й Боткинский пр., д.3), доктор биологических наук, профессор

Р.И. Якубовская
«21» марта 2016 г.

Р.И. Якубовская

Подпись Р.И. Якубовской заверяю:

Ученый секретарь Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А.Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации



Е.П. Жарова

Е.П. Жарова

«21» марта 2016 г.

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ ПО ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ

Рыбкина Александра Юрьевича

на тему

**ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ
ВОДОРАСТВОРИМЫХ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН-КРАСИТЕЛЬ**
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.01.02 – биофизика.

Фамилия, имя, отчество	Якубовская Раиса Ивановна
Место основной работы, должность	Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации Руководитель от деления модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии
Почтовый адрес	125284, Москва, 2-й Боткинский пр., д.3
Эл. адрес	raisayakub@yandex.ru
Ученая степень	Доктор биологических наук по специальности 14.01.12 - онкология
Ученое звание	Профессор
Основные работы по профилю оппонируемой диссертации за последние пять лет	1. Плютинская А.Д., Якубовская Р.И., Лукьянец Е.А., Негримовский В.М., Чиссов В.И. Изучение <i>in vitro</i> фотоиндуцированной активности положительно заряженных фталоцианинов. Российский онкологический журнал, 2011, №2, с.25-28 2. Казачкина Н.И., Якубовская Р.И., Морозова Н.Б. Оценка противоопухолевого эффекта фотодинамической терапии в сочетании с цисплатином. Российский онкологический журнал, 2011. № 6, с.26-29. 3. Осиков Н.В., Морозова Н.Б., Якубовская Р.И., Чиссов В.И., Авраменко Г.В., Негримовский В.М., Лукьянец Е.А., Ворожцов Г.Н. Средства доставки катионного фотосенсибилизатора для антимикробной ФДТ. Химическая технология, 2011, №8, с. 501-507. 4. Казачкина Н.И., Панкратов А.А., Якубовская Р.И., Негримовский В.М.. Индукция протопорфирина IX в тканях мышей при наружном применении 5-аминолевулиновой кислоты в составе водных гелей. Российский биотерапевтический журнал. 2011; том 10, №2, с. 67-71. 5. Морозова Н.Б., Якубовская Р.И., Чиссов В.И., Негримовский В.М., Южакова О.А. Фотоиндуцированная активность <i>in vivo</i> положительно заряженного фталоцианина цинка, предназначенного для фотодинамической терапии злокачественных опухолей. Российский онкологический журнал, 2012, № 1, с. 23-28. 6. M.A. Grin, I.S. Lonin, L.M. Likhoshesterov, O.S. Novikova, A.D. Plyutinskaya, E.A. Plotnikova, V.V. Kachala, R.I. Yakubovskaya, A.F. Mironov. "Click chemistry" in the synthesis of the first glycoconjugates of bacteriochlorin series. J. Porphyrins Phthalocyanines 2012; 16: 1094-1109.

DOI: 10.1142/S1088424612500848

7. Якубовская Р.И., Казачкина Н.И., Кармакова Т.А., Морозова Н.Б., Панкратов А.А., Плютинская А.Д., Феофанов А.В., Чиссов В.И., Зебреев А.И., Тихомирова А.В. Методические рекомендации по изучению фотоиндуцированных противоопухолевых свойств лекарственных средств. В Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. Глава 40. Методические рекомендации по изучению фотоиндуцированных противоопухолевых свойств лекарственных средств. М: Гриф и К, 2012, с. 657-672.
8. Якубовская Р.И., Морозова Н.Б., Панкратов А.А., Казачкина Н.И., Плютинская А.Д., Кармакова Т.А., Андреева Т.Н., Венедиктова Ю.Б., Плотникова Е.А., Немцова Е.Р., Соколов В.В., Филоненко Е.В., Чиссов В.И., Коган Б.Я., Бутенин А.В., Феофанов А.В., Страховская М.Г. Экспериментальная ФДТ: 15 лет развития метода. Российский химический журнал. 2013, Т. LVII. № 2, с. 10-30.
9. A.F. Mironov, M.A. Grin, R.I. Reshetnikov, R.I. Yakubovskaya, E.A. Plotnikova, N.B. Morozova, A.V. Feofanov, A.V. Efremenko, D.E. Ermakova, A.A. Tsigankov. Novel bacteriochlorophyll-based photosensitizers and their photodynamic activity. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines. 2014, 18, 3. 129-138.
10. R.I. Yakubovskaya, E.A. Plotnikova, A.D. Plutinskaya, N.B. Morozova, V.I. Chissov, E.A. Makarova, S.V. Dudkin, E.A. Lukyanets, G.N. Vorozhtsov. Photophysical properties and in vitro and in vivo photoinduced antitumor activity of cationic salts of meso-tetrakis(N-alkyl-3-pyridyl)bacteriochlorins. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2014, 130, P. 109-114.
11. Панкратов А.А., Андреева Т.Н., Якубовская Р.И., Коган Б.Я., Бутенин А.В., Фейзулова Р.К-Г, Пучнова В.А., Новоселецкий Н.В., Хромов А.В., Лукьянец Е.А., Ворожцов Г.Н. Изучение фотоиндуцированной противоопухолевой эффективности наноструктур на основе фталоцианинов в качестве «профотосенсибилизаторов». Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2014, Т. 157, № 6, с. 771-775.
12. Якубовская Р.И., Плютинская А.Д., Плотникова Е.А., Грин М.А., Миронов А.Ф., Сергеева В.С.. Эффективность в системе in vitro гликозилированных производных триметилового эфира хлорина е6 в зависимости от положения углеводного фрагмента в макроцикле. Фотодинамическая терапия и фотодиагностика, 2014, №2, с. 3-7.
13. Якубовская Р.И., Плютинская А.Д., Лукьянец Е.А. Сравнительное изучение фотосенсибилизаторов различных классов в системе in vitro. Фталоцианины. Российский биотерапевтический журнал, 2014, №4, с. 65-72.
14. Якубовская Р.И., Плютинская А.Д., Плотникова Е.А., Грин М.А., Миронов А.Ф. Сравнительное изучение фотосенсибилизаторов различных классов в системе in vitro. Пирофеофорбиды и хлорины. Российский Биотерапевтический журнал – 2015. - №1., с. 43-51.