

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук

Розенкранца Андрея Александровича на тему:

**«Многофункциональные наноконструкции для направленного
внутриклеточного транспорта терапевтических средств в раковые клетки»**

по специальности 03.01.02 – «Биофизика»

Исследования в области биомедицины привели к настоящему моменту к накоплению очень большого массива данных о функционировании и регуляции в клетке. Они относятся, в том числе, к пониманию межмолекулярных взаимодействий, определяющих внутриклеточные регуляторные и транспортные процессы, что было достигнуто усилиями специалистов в области биологии, химии, физики и тех смежных областей, которые возникли при интегрировании знаний: физико-химической биологии, биофизики, биохимии, молекулярной биологии и других. Более того, это касается не только нормального функционирования, но и развития патологий различной природы, обусловленных аномальной работой определенных макромолекулярных и надмолекулярных структур. Положение дел делает возможным практическое использование накопленных сведений для лечения различных заболеваний, в первую очередь, неизлечимых на данный момент. Представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук диссертация А.А. Розенкранца представляет собой важный и интересный шаг в этом направлении. Подавляющее большинство используемых в настоящее время лекарств представляет собой химические соединения, участвующие в метаболизме или регулирующие его. То есть, они осуществляют свое действие на уровне процессов, происходящих в клетках или в тканях. Использование излучений, как видимого диапазона, так и ионизирующего позволяет осуществлять пространственно локализованное воздействие для терапии рака. Как химические средства, так и физические излучения неспецифичны по отношению к типу клетки. В целом они не зависят от того, является ли эта клетка нормальной или злокачественной. Это определяет основную проблему терапии онкологических заболеваний – недостаток специфичности по отношению к клетке. В данной диссертационной представлена попытка, и надо сразу сказать, успешная, по крайней мере, в лабораторных условиях, доставить источник излучения непосредственно в то место опухолевой клетки, в котором он окажет наибольшее воздействие. Это касается и фотосенсибилизаторов, с которым автор долго и успешно работал, так и радионуклидов – эмиттеров частиц, имеющих достаточно большую линейную передачу энергии. Такие частицы имеют

малый пробег в тканях и отличаются высокой повреждающей способностью за счет физического повреждения молекул, их ионизации, образования радикалов, а также за счет образования набора активных форм кислорода. Создание средств, способных эффективно донести источник излучения до ядра опухолевой клетки представляется актуальным, расширяет возможности воздействия на субклеточном уровне. По-видимому, можно считать, что речь идет о создании нового класса терапевтических средств, в котором уже представленные автором конкретные модульные нанотранспортеры занимают только малую часть возможной области применения.

Диссертация А.А. Розенкранца изложена на 297 страницах, иллюстрирована 71 рисунком, включает также 22 таблицы и список цитированной литературы из 651 наименования. Работа построена по традиционному плану, состоит из введения, обширного обзора литературы, результатов, обсуждения и выводов.

Раздел «Введение» подробно обосновывает исходные предпосылки исследования, его новизну, актуальность, дает общую характеристику исследования, формулирует цели и задачи.

Раздел «Обзор литературы» достаточно велик по объему и вводит в проблематику исследования. Эта проблематика включает в себя описание тех агентов, доставка которых в ядро клетки принципиально сказывается на проявлении их эффектов, подробное описание внутриклеточного транспорта макромолекул, а также особенностей поверхностных рецепторов раковых клеток, которые могут быть использованы для селективного транспорта внутрь клеток. Очень подробно рассматриваются те несколько рецепторов, для взаимодействия с которыми в течение работы были созданы наиболее интересные системы доставки внутрь опухолевой клетки определенного типа – модульные нанотранспортеры. Эти рецепторы уже привлекли внимание многих исследователей по всему миру с точки зрения попыток воздействия на опухолевые клетки. Проведенный в работе анализ показывает недостаточность подхода по блокировке этих рецепторов для эффективного воздействия на опухоли. Отмечается, что вещества, связывающиеся с этими рецепторами, в последнее время рассматриваются в качестве средства, обеспечивающего узнавание опухолевой клетки и для попыток доставить в них различные агенты, в первую очередь, традиционные химиотерапевтические средства. Дальнейший внутриклеточный транспорт этих агентов остается практически без внимания исследователей.

Раздел «Материалы и методы» описывает примененные в исследовании методы. Среди них достаточно большой перечень методов химического синтеза, целый ряд биофизических и физико-химических и аналитических методов для исследования

свойств получаемых транспортных конструкций, методы работы с клетками, а также с лабораторными животными, включая конфокальную лазерную сканирующую микроскопию и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию. Большой набор разнообразных современных методов подчеркивает высокий уровень проведенных исследований.

Раздел «Результаты» подробно описывает многолетние проведенные исследования, направленные на создание транспортных конструкций, обеспечивающих доставку в клетки. Он разделен на 10 частей, включающих в себя описание синтеза, химического или при помощи генно-инженерных подходов, различных макромолекулярных и надмолекулярных конструкций для доставки фотосенсибилизаторов, радионуклидов и нуклеиновых кислот. В них описано также исследование физико-химических свойств этих конструкций, их взаимодействие с биологическими структурами, которое позволяет проникать в клетки и далее транспортироваться внутри клетки. Значительное внимание уделено также изучению транспорта этих конструкций в клетки и распределению в них. Развитие работы, начавшееся с получения полусинтетических конструкций не строго определенного по соотношению компонентов состава, привело к идее объединения необходимых свойств в единой молекуле, созданной генно-инженерным способом. Эти молекулы – модульные нанотранспортеры включают в себя фрагменты белков, отвечающих за необходимые для внутриклеточного транспорта функции. Они обладают набором свойств для доставки фотосенсибилизаторов и радионуклидов в ядра опухолевых клеток определенного типа. Проведенные эксперименты убедительно показывают, что отдельные части этой молекулы, называемые функциональными модулями, сохраняют способность взаимодействовать с необходимыми биологическими структурами в составе единой молекулы. Эти взаимодействия подтверждены с применением современных биофизических методов, а также при помощи исследования распределения транспортеров и доставляемых ими веществ в клетках в культуре и в организме. Полученные на культурах клеток и при радионуклидной терапии на животных моделях результаты позволяют надеяться на успешное применение такого подхода и в клинике. Разрабатываемы на основе знаний о взаимодействии макромолекул в клетке и об их внутриклеточном транспорте модульные нанотранспортеры имеют, по-видимому, наиболее ясные на настоящий момент перспективы при использовании для доставки эмиттеров электронов Оже (^{125}I , ^{67}Ga , ^{111}In). Продемонстрированное очень большое усиление цитотоксического действия дает основание считать, что предлагаемый подход

позволит уничтожать единичные злокачественные клетки, которые практически невозможно выявить, пока они не дадут метастазы.

В разделе «Обсуждение результатов» проведен анализ полученных данных и сформулированы общие принципы создания конструкций для направленного внутриклеточного транспорта для противоопухолевой терапии. К ним можно относиться определение того, какие внутриклеточные мишени являются наиболее перспективными для воздействия с целью специфического уничтожения опухолевых клеток, какие агенты можно считать перспективными для направленного внутриклеточного транспорта в ядра опухолевых клеток, минимальный состав конструкций, определены молекулярные параметры, с помощью которых создаваемые конструкции могут отличить злокачественные клетки от нормальных. Показаны также те этапы внутриклеточного транспорта, которые могут обеспечить доставку в клеточное ядро.

Резюмируя анализ диссертационной работы А.А. Розенкранца, можно сделать вывод, что автором были получены принципиально новые научные результаты, которые делают возможным изменить подходы в области радионуклидной терапии. На их основе можно создавать радиофармацевтические препараты для противоопухолевой терапии.

Представленная диссертационная работа является законченным исследованием, в ней отражен большой массив данных, полученных автором за многие годы работы. Полученные результаты являются новыми, их достоверность подкреплена соответствующим статистическим анализом. Публикация их в международных журналах показывает, что они прошли проверку научным экспертным сообществом и работа выполнена на высоком уровне. Все перечисленные в диссертации статьи опубликованы в журналах, реферируемых Web of Sciences, и нашли отклик в достаточно большом количестве научных публикаций, о чем свидетельствует высокая их цитируемость. Различные разделы работы многократно докладывались на многих всероссийских и международных научных съездах и конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Практически все результаты, включенные в диссертационную работу, опубликованы в рецензируемых журналах, а также доложены на международных и всероссийских конференциях.

Диссертационная работа А.А. Розенкранца заслуживает самой высокой оценки. Представленные результаты достоверны и приоритетны, что подтверждает также значительное количество полученных патентов. Высоко оценивая экспериментальные и теоретические достоинства работы, следует, тем не менее, указать на ее некоторые недостатки.

К работе имеется ряд вопросов и замечаний:

1. В работе подробно описаны различные варианты МНТ, содержащих различные терапевтические средства. Было бы целесообразно привести сводные данные по фармакокинетики для всех исследованных систем, как это сделано для случая [125 I]-SGMIB–ДТокс-НМР-СЯЛ-ЭФР (Рис. 4.21).
2. Положения, выносимые на защиту – в третьем пункте говорится, что «присоединение фотосенсибилизаторов и радионуклидов ... приводит к многократному увеличению их эффекта на культурах опухолевых клеток - по сравнению с чем?
3. Какова цитотоксичность самих МНТ и какие побочные эффекты они могут вызывать?
4. Автор опустил описание присоединения иода-125 к модульным нанотранспортерам, ограничившись только описанием присоединения его аналога астата-211.

Тем не менее, 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 паспорту специальности 03.01.02. – «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, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Розенкранц Андрей Александрович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика».

Официальный оппонент:

доктор химических наук, член-корреспондент РАН
профессор, заведующий кафедрой радиохимии, декан химического факультета МГУ
имени М.В. Ломоносова

Степан Николаевич Калмыков

Контактные данные:

Тел.:7 (495) 939 3571

E-mail: _____@_____.com

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.14 - Радиохимия

Адрес места работы:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова"
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3, ГСП-1, МГУ, химический факультет

Телефон: +7(495) 939 3571, электронная почта: dekanat@chem.msu.ru

Подпись Степана Николаевича Калмыкова заверяю: