

## УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор -  
проректор по научной работе  
ФГАОУ ВО «Российский  
университет дружбы народов»  
д.м.н., профессор,  
член-корреспондент РАН

А.А. Костин



«24» февраля 2022 г.

## ОТЗЫВ

**ведущей организации - ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» о значимости диссертационной работы Шиловой Елены Васильевны на тему «Исследование и разработка магнитоиммунолипосом и нейтрофильных внеклеточных ловушек в качестве средств адресной доставки лекарственных веществ», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 –Биофизика.**

### Актуальность диссертационной темы

Таргетированная доставка лекарств представляет собой метод доставки препарата пациенту таким способом, который увеличивает концентрацию лекарства в одних частях тела по сравнению с другими. Это средство доставки в значительной степени основано на наномедицине, которая использует доставку лекарств, опосредованную наночастицами, для борьбы с недостатками традиционной доставки лекарств. Эти наночастицы будут наполнены лекарствами и нацелены на определенные части тела, где есть только больные ткани, тем самым избегая взаимодействия со здоровой тканью. В качестве таких носителей лекарственных препаратов могут выступать как различные неорганические частицы, так и липосомы. В частности, перспективным средством в тераностике являются липосомы, содержащие в своём составе наночастицы оксидов металлов (магнитолипосомы). Они позволяют комбинировать диагностику и лечение,

инкапсулируя контрастные агенты для магнитно-резонансной томографии (МРТ) вместе с терапевтическими средствами. Тем не менее, существует ряд проблем при производстве магнитоуправляемых липосом. Магнитные наночастицы, поверхность которых не стабилизирована поверхностно-активными веществами, вызывают утечку лекарственных препаратов из липосом. Также обязательными условиями для применения липосомальных частиц является их соответствие размерным характеристикам (70-200 нм) и отсутствие токсических свойств. В связи с вышесказанным актуальность темы не вызывает сомнений.

В работе получены и исследованы липосомальные наночастицы, содержащие в своём составе магнетит ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). В ходе исследований был произведен подбор условий получения парамагнитных частиц магнетита и марганцевого феррита, при которых полученные частицы обладают минимальной агрегацией; получены липосомы с довольно узким распределением по размеру; произведено покрытие магнетита цетилтриметиламмония бромидом (ЦТАБ), что способствовало преимущественному встраиванию  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -ЦТАБ в липидный бислой; полученные липосомы исследованы на цитотоксичность в отношении клеток крови человека и микроводорослей *Chlorella vulgaris*.

### **Научная новизна**

В диссертационной работе Шиловой Е.В. произведена разработка получения липосомальных наночастиц с включёнными в состав магнитными наночастицами магнетита. Частицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  были покрыты цетилтриметиламмония бромидом, что способствовало преимущественному встраиванию их в липидный бислой, при этом освобождая место во внутренней полости липосом для включения большего количества лекарственного препарата. Определены оптимальные концентрации исходных веществ и диапазон значений рН-буферов, позволяющих синтезировать частицы магнетита и марганцевого феррита с минимальной агрегацией. Выявлено отсутствие токсических свойств, полученных



наночастиц в отношении эритроцитов, лимфоцитов крови человека и микроводорослей *Chlorella vulgaris*.

### **Структура и объём работы**

В состав диссертации входят: введение, обзор литературы, описание методов и материалов, а также главы, содержащие результаты и обсуждение, заключение, выводы и список использованной литературы. Текст работы занимает 120 страниц. Работа содержит 32 рисунка. Список литературы состоит из 162 наименований.

По материалам диссертации опубликован 1 патент РФ, 4 статьи в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных журналах, 1 статья РИНЦ, 11 тезисов докладов.

Структура работы логична и понятна. Необходимо отметить, что экспериментальная часть работы выполнена автором тщательно, на современном уровне, полученные результаты не вызывают никаких сомнений.

**В обзоре литературы** приведены современные представления о функциях нейтрофилов крови человека, отдельный пункт посвящён механизмам и функциям нетоза – образования нейтрофилами внеклеточных ловушек. Участие нейтрофильных внеклеточных ловушек в развитии различных заболеваний позволяет рассматривать их в качестве мишеней адресной доставки лекарственных веществ, используемых в терапии данных заболеваний. Также в обзоре литературы приводятся сведения о средствах адресной доставки лекарств, дана более подробная характеристика липосомальных наночастиц и парамагнитных частиц на основе оксидов металлов переменной валентности, которые были получены и исследованы в работе.

**В главе 3** описаны результаты по изучению процесса нетоза при стимуляции нейтрофилов крови человека частицами латекса (1,5 мкм). Выявлены временные рамки процесса, а также структурная целостность генома нейтрофилов при образовании внеклеточных сетей. Показано наличие

в структуре НВЛ молекул гистона Н3, которые авторы рассматривают в качестве потенциальных мишеней для целенаправленной доставки лекарственных препаратов.

**Глава 4 посвящена** проблемам синтеза парамагнитных наночастиц магнетита и марганцевого феррита. В главе определены оптимальные условия их образования, а именно концентрации исходных веществ и диапазоны значений рН буферов, используемых при их синтезе. Установлено, что при синтезе магнетита оптимальными являются исходные концентрации солей ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ ) - 30мМ и диапазон значений рН: 6.5-8.0 для натрий фосфатного и 8.0-8.5 для трис-глицинового буферов; для марганцевого феррита ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{MnCl}_2$ ) - 45мМ и трис-глициновый буфер со значениями рН 8.0-8.5.

**В главе 5** описано получение липосомальных наночастиц состава фосфатидилхолин/холестерин / ДСФЭ-ПЭГ / антитела к -гистону Н3 /  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -цетилтриметиламмония бромид). Установлен режим ультразвуковой обработки 15 минут (20 кГц, 10 секундный импульс с перерывом 3 сек), позволяющий получать липосомы с узким распределением по размерам. Также изучены токсические свойства полученных наночастиц в отношении объектов животного и растительного происхождения. Показано, что липосомы не оказывают токсического воздействия на клетки крови человека (лимфоциты и эритроциты) и микроводоросли *Chlorella vulgaris* (при концентрациях 1-1000 липосом на 1 клетку).

**Достоверность результатов и выводов** определяется широким набором методов, используемых в работе, а также публикацией результатов исследований в высокорейтинговых изданиях и апробацией материалов исследования на всероссийских и международных конференциях.

По материалам диссертации опубликован 1 патент РФ, 4 статьи в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных журналах, 1 статья РИНЦ, 11 тезисов докладов.



Тем не менее, к работе имеются **вопросы и замечания:**

1. Каким образом синтезированные наночастицы будут элиминироваться из организма?
2. В работе никак не подтверждается конъюгация антитела к гистону Н3 с молекулой полиэтиленгликоля в структуре липосом. Необходимо провести дополнительные исследования, подтверждающие конъюгацию.
3. В тексте диссертации имеют место опечатки и ошибки в оформлении работы.

Данные замечания не снижают ценности диссертации, которая представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Новые научные результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для получения магнитоиммунолипосом и нейтрофильных внеклеточных ловушек в качестве средств адресной доставки лекарственных веществ. Выводы и рекомендации достаточно обоснованы.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные в ходе проведения исследований результаты могут быть полезны и учтены при разработке систем для адресной доставки лекарственных препаратов на основе липосом и частиц оксидов металлов переменной валентности.

#### **Заключение**

Таким образом, диссертация Шиловой Елены Васильевны на тему «Исследование и разработка магнитоиммунолипосом и нейтрофильных внеклеточных ловушек в качестве средств адресной доставки лекарственных веществ», выполненная под руководством д.б.н., проф. Артюхова Валерия Григорьевича, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой

решена актуальная научная задача оптимизации методов получения липосомальных наночастиц.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Шилова Е.В. достойна присуждения искомой степени по специальности 1.5.2 – Биофизика.

Настоящий отзыв подготовлен профессором Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН (ИБХТН), доктором химических наук, профессором Станишевским Ярославом Михайловичем, обсужден и утвержден на заседании Ученого совета Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН (ИБХТН), протокол № 34 от «22» февраля 2022 года.

Отзыв составил:

Профессор Института биохимической технологии  
и нанотехнологии РУДН (ИБХТН)

доктор химических наук

03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

кандидат биологических наук

03.00.23 - Биотехнология,

02.00.06 - Высокмолекулярные соединения

*Подпись заверяю  
Земч. директора ИБХТН*



Я. М. Станишевский

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Российский университет дружбы народов»

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Тел. (495) 787-38-03, (495) 434-42-12, (495) 434-66-82

e-mail: rector@rudn.ru; rudn@rudn.ru