

Минобрнауки России



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физической химии и электрохимии  
им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук  
(ИФХЭ РАН)

Ленинский проспект, д. 31, корп. 4. Москва. 119071.  
Тел. (495) 955-46-01; Факс: (495) 952-53-08; E-mail: dir@phyche.ac.ru; http://www.phyche.ac.ru  
ОКПО 02699292; ОГРН 1037739294230; ИНН/КПП 7725046608/772501001

09.11.2020

№ 12105-01-14/1244

“УТВЕРЖДАЮ”

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_



Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Институт  
физической химии и электрохимии  
им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук  
(ИФХЭ РАН)

Член-корреспондент РАН, доктор химических  
наук, профессор

Буряк Алексей Константинович  
ноября 2020 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

**Чумакова Даниила Сергеевича** на тему

**“Оценка цитотоксичности золотых наночастиц с использованием  
оптических методов и их применение для фототерапии опухолей”,**

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.02 Биофизика

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Диссертационная работа Чумакова Даниила Сергеевича посвящена решению двух задач, связанных с получением принципиально важной информации о токсичности наночастиц металлов и оценкой перспектив их использования для борьбы с различными опасными заболеваниями. При этом в качестве объектов исследования были выбраны наночастицы золота и анизотропные композитныеnanoструктуры с золотым ядром и диэлектрической оболочкой. Последние годы интерес к таким частицам непрерывно возрастает, что обусловлено широким спектром присущих им уникальных свойств.

Очевидно, что одним из основных вопросов с точки зрения применения такого рода частиц для решения практических задач (в первую очередь, биомедицинских)

является их безопасность для здоровья человека и окружающей среды. Не менее важным является и определение оптимальных условий использования таких наночастиц (например, разработка новых терапевтических протоколов).

С учетом сказанного, актуальность работы Д.С. Чумакова несомненна.

### **Научная новизна**

В представленной работе впервые проведен сравнительный анализ токсичности наночастиц золота разного размера, полученных с использованием в качестве восстановителя хлорида тетракисгидроксиметилфосфония (так называемый метод Даффа), и показано, что наибольшая цитотоксичность регистрируется для свежеприготовленной дисперсии, содержащей частицы ультрамалого размера. Получены оригинальные данные, позволившие определить, какой из компонентов дисперсии обуславливает наблюдаемый эффект.

Впервые в условиях *in vivo* проанализирована возможность совмещения фототермической и фотодинамической терапии опухолей с использованием в качестве сенсибилизаторов золотых наностержней, покрытых оболочкой из диоксида кремния, функционализированной гематопорфирином. Разработан оригинальный дизайн эксперимента, и показано, что предлагаемый подход может быть применен и к достаточно крупным ( $4 \text{ см}^3$ ) опухолевым моделям.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 129 страницах и включает традиционные разделы: введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, две главы с представлением результатов и их обсуждением, заключение, выводы и список использованной литературы, включающий 232 источника.

Во введении определены цель и задачи исследования, а также новизна, фундаментальная и практическая значимость работы.

Обзор литературы состоит из двух частей. Одна из них посвящена характеристике токсических свойств плазмонно-резонансных и ультрамалых золотых наночастиц. Автор суммирует данные о токсичности коллоидного золота и анализирует наиболее значимые работы, выполненные в этой области как на клеточных моделях, так и *in vivo*. При этом подробно рассмотрены основные факторы, определяющие токсичность наночастиц, главными из которых являются их размер и тип поверхностной

функционализации, состав дисперсионной среды и доза. Особенный акцент сделан на проблемных вопросах и пробелах в понимании токсической природы ультрамалых золотых наночастиц.

Во второй части обзора литературы обсуждается один из перспективных биомедицинских подходов – плазмонно-резонансная фототермическая терапия (ПРФТ) опухолей с использованием наночастиц золота. При этом автор подробно рассматривает преимущества и недостатки этого подхода и проводит детальный анализ работ, выполненных в данной области. Большой интерес вызывают описанные автором результаты клинических исследований ПРФТ, основанной на использовании золотых нанооболочек, применительно к лечению рецидивирующих опухолей головы и шеи. Значительное внимание в этой части обзора автор уделяет анализу возможности сочетания ПРФТ с другими терапевтическими методами для достижения максимальной эрадикации опухолей. Приводятся убедительные доводы в пользу целесообразности сочетания ПРФТ с фотодинамической терапией с целью усиления терапевтического эффекта.

Материал, собранный и проанализированный Д.С. Чумаковым в главе “Обзор литературы” подтверждает актуальность выбранной темы диссертации.

Обзор литературы написан достаточно хорошим языком, современен и касается тех проблем, которые имеют непосредственное отношение к теме диссертационной работы. Грамотный и тщательный анализ литературных данных обуславливает убедительность цели и задач работы, поставленных ее автором.

В следующей главе 2 соискатель подробно описывает использованные при выполнении работы методы и подходы, а также оборудование и реактивы. Представленная информация убедительно свидетельствует о достоверности полученных результатов и дает обоснование для представления данной работы по специальности 03.01.02 Биофизика.

Глава 3 посвящена изложению результатов проведенного автором исследования цитотоксичности гидрозолей золота, полученных методом Даффа, с использованием оптических методов детектирования. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что цитотоксичность гидрозолей, содержащих ультрамалые наночастицы Au, связана с наличием в дисперсионной среде ионов золота, не восстановившихся в ходе синтеза.

В ходе проведенных экспериментов определена активность антиокислительных ферментов в клеточных лизатах после инкубации с дисперсиями ультрамалых золотых наночастиц, что позволило выявить индукцию оксидативного стресса в клетках.

В этой же главе представлены результаты сравнительного анализа токсических свойств наночастиц золота разного размера, согласно которому частицы диаметром около 17 нм не оказывали влияния на жизнеспособность клеточных тест-культур, тогда как ультрамалые наночастицы, полученные в эквивалентных условиях, проявляли по отношению к ним острую токсичность.

Глава 4 посвящена изложению результатов изучения автором эффективности комбинированной фототерапии привитых опухолей у крыс с использованием в качестве сенсибилизаторов золотых наностержней с кремнеземной оболочкой, функционализированной гематопорфирином. Согласно полученным данным, интрапатоморальное введение таких композитных частиц в дозе 2 мг Au/кг с последующим облучением опухоли лазером с длиной волны генерации 633 и/или 808 нм приводит к значительному ингибированию ее роста (до 37 % на 21-ый день после сеанса облучения) по сравнению с контрольной группой. При этом в ходе комбинированной фототерапии преимущественно реализуется режим термоабляции опухоли.

В разделах “Заключение” и “Выводы” обобщены полученные экспериментальные данные, обоснованы основные положения работы и сформулированы выводы.

### **Научная и практическая значимость результатов**

Диссертационное исследование Чумакова Даниила Сергеевича, безусловно, имеет научную и практическую ценность. Полученные соискателем результаты дополняют фундаментальные представления о взаимодействии наночастиц благородных металлов с биологическими объектами. Кроме того, они могут быть использованы для оценки медицинских и экологических рисков применения золотых наночастиц, а также для дальнейшего развития фототермической терапии опухолей. Дополнительным подтверждением практической значимости результатов работы является полученный соискателем патент на изобретение «Недеструктивный способ оценки цитотоксичности наночастиц с использованием микроводоросли *Dunaliella salina*».

### **Обоснованность выводов**

Использование соискателем современных биофизических, химических, физиологических и биохимических методов исследования и адекватных статистических методов для обработки экспериментальных данных подтверждает достоверность

результатов, представленных в диссертационной работе Чумакова Даниила Сергеевича, а также сделанных выводов и выносимых на защиту положений.

#### **Полнота опубликованности положений и результатов диссертации**

Основные положения и результаты диссертационной работы отражены в автореферате и публикациях автора. Всего по теме диссертации опубликовано 26 научных работ, 9 из которых – в рецензируемых журналах, индексируемых Web of Science, Scopus и РИНЦ. Рукопись автореферата соответствует содержанию диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

#### **Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе**

1. На наш взгляд, обсуждение результатов, описанных в Главе 3, правомернее было бы проводить в терминах токсичности дисперсий, содержащих наночастицы золота того или иного размера, а не самых наночастиц, поскольку, согласно полученным автором данным, основное токсическое действие оказывают именно присутствующие в дисперсионной среде «остаточные» ионы золота (и/или их фосфиновые комплексы).

2. Из методической части работы (раздел 2.2) следует, что для стабилизации наночастиц золота, получаемых методом Даффа, в систему дополнительно вводили достаточно большое количество поливинилпирролидона. Не очень понятно, применялся ли этот прием ко всем исследованным дисперсиям или только к содержащим «плазмонно-резонансные» (т.е. сравнительно большие) наночастицы. Вообще говоря, присутствию этого полимера в дисперсии(ях) следовало уделить больше внимания, поскольку он способен не только адсорбироваться на поверхности наночастиц, влияя на их биосовместимость, но и координировать ионы металла.

3. В несколько более подробном обосновании нуждаются выбранные условия комбинированной фототерапии опухолей. Это позволило бы лучше понять перспективы предложенного подхода.

Высказанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают общего положительного впечатления от работы.

#### **Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует**

Представленные к защите результаты диссертационного исследования свидетельствуют о высокой квалификации ее автора – Чумакова Даниила Сергеевича. Выбранная стратегия исследования корректна и логически последовательна. В целом диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне. Грамотная интерпретация полученных результатов и сформулированные выводы свидетельствуют

о понимании соискателем биофизических принципов и особенностей взаимодействия золотых наночастиц с биосистемами. Все это позволяет говорить о соответствии соискателя – Чумакова Даниила Сергеевича – ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 «Биофизика», на которую он претендует.

### Заключение

Диссертационная работа Чумакова Даниила Сергеевича на тему “Оценка цитотоксичности золотых наночастиц с использованием оптических методов и их применение для фототерапии опухолей” является законченной научно-исследовательской работой, имеющей научно-практическое значение. Представленная к защите диссертация соответствует требованиям ВАК п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам автор Д.С. Чумаков заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 «Биофизика».

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре Лаборатории поверхностных явлений в полимерных системах Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук (ИФХЭ РАН) от 03.11.2020 г., протокол № 3.

Отзыв составили:

ведущий научный сотрудник  
лаборатории поверхностных  
явлений в полимерных системах  
ИФХЭ РАН, доктор химических наук,  
доцент

Дементьев Ольга Вадимовна

заведующий лабораторией  
поверхностных явлений  
в полимерных системах ИФХЭ РАН,  
кандидат химических наук

Рудой Виктор Моисеевич

119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 31, корп. 4  
Тел: +7 (495) 955-46-60  
e-mail: dema\_ol@mail.ru

Подпись Дементьевой О.В ч Рудою В.М  
закрыто  
для налогового  
ондера гадров Улагова  
09.11.2020

