

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук **Гельфонда Марка Львовича**

на диссертационную работу Шолиной Натальи Валериевны

«Фотодинамическая терапия солидных опухолей с применением фотосенсибилизатора эндогенной природы и наноразмерных апконвертирующих фосфоров», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология

### **Актуальность темы исследования**

На сегодняшний день в клинической и экспериментальной онкологии широкое распространение получили новые методы диагностики и лечения, основанные на достижениях фотохимии, фотобиологии и квантовой физики. Их применение в практике врача-онколога стало возможно после адаптирования лазерных технологий для биомедицинского использования. Однако поиск препаратов, эффект которых основан на их уникальных фотохимических свойствах остается актуальным и на сегодняшний день. Фотодинамическая терапия (ФДТ) – представляет собой метод лечения, заключающийся в применении препарата – фотосенсибилизатора, то есть вещества, чувствительного к свету, и лазерного излучения с длиной волны, соответствующей пику в спектре поглощения фотосенсибилизатора. ФДТ нашла свое место в клинической практике и оказалась эффективной в самостоятельном и комбинированном лечении рака различных стадий и локализаций, а также целого ряда неопухолевых и инфекционных заболеваний.

В настоящее время, когда различными аспектами фотомедицины и тесно связанной с ними флуоресцентной диагностикой, занимаются большое количество ученых и практикующих врачей, когда накоплены данные об результативности ФДТ и ее возможных побочных эффектах - на первый план выходит поиск одновременно безопасного и эффективного фотосенсибилизатора.

В диссертационной работе Шолиной Н.В. в качестве фотосенсибилизатора для ФДТ солидных опухолей предлагается широко известный препарат из фармако-терапевтической группы «витамины» - рибофлавин (витамин В2)

и его водорастворимая форма, в которой он присутствует в клетках организма – флавиномононуклеотид.

Основным ограничением его применения для целей ФДТ является небольшая глубина (всего 1,5-2мм), проникновения активирующего препарат света в ткани (УФ и синий диапазон спектра), в связи с чем, его применение ограничивается, в основном, фототерапией поверхностно расположенных и небольших по объему новообразований.

Этот весьма серьезный недостаток рибофлавина в качестве фотосенсибилизатора диссертантом предложено преодолеть с помощью остроумного и, вместе с тем, технически доступного метода наноструктурирования препарата с помощью наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, способных конвертировать свет глубоко проникающего ближнего ИК-диапазона на длине волны 975 нм в свет УФ и видимого диапазона спектра, необходимого для возбуждения рибофлавина и увеличения эффективности его фототерапевтического действия.

Следует отметить, что использование широко распространенных в клинической практике медицинских лазеров с генерацией излучения на длине волны 975нм позволит теперь не только использовать их в качестве хирургических аппаратов, но и в случае официального признания наномодифицированного рибофлавина лекарственным средством, применять серийно выпускаемые лазерные установки для фотодинамической терапии. Таким образом, предложенная в работе Шолиной Н.В. комбинация природного фотосенсибилизатора с наноматериалами с антистоксовой фотолюминесценцией, способствующими увеличению глубины доставки света в ткани до нескольких сантиметров, позволяет повысить эффективность фотодинамической терапии и снизить побочные эффекты лечения.

В связи с этим, актуальность исследования Шолиной Натальи Валериевны, посвященного изучению эффективности фотодинамической терапии со-

лидных опухолей с использованием эндогенного фотосенсибилизатора – рибофлавина и наноразмерных апконвертирующих фосфоров, не вызывает сомнений.

Сформулированная автором цель исследования, заключающаяся в использовании флавиномононуклеотида в качестве фотосенсибилизатора, как самостоятельно, так и в комбинации с наночастицами с антистоксовой фотолуминесценцией, соответствует названию диссертации и адекватна поставленным задачам.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Сформулированные автором научные положения четко обоснованы в тексте диссертации. Автором использованы общепринятые, но самые современные молекулярно-биологические методы исследования и модельные системы *in vitro* и *in vivo* в качестве методологической основы. Выводы диссертационной работы обоснованы представленными данными, полученными при выполнении работы. Результаты подтверждены использованием современных методов статистической обработки.

Научная новизна диссертационной работы Шолиной Н.В. заключается в том, что автором продемонстрированы достоверные различия селективности накопления фотосенсибилизатора в опухолевых и нормальных клетках и тканях, и, как результат, его амфифильность и избирательное фототоксическое действие в отношении опухолевых клеток. Доказано, что цитотоксические концентрации флавиномононуклеотида, установленные на клеточных линиях, в организме экспериментальных животных, с преимущественным накоплением фотосенсибилизатора в опухолевом очаге достижимы при внутривенном введении препарата. Так автором убедительно продемонстрирована регрессия ксенотрансплантата меланомы кожи у мышей в результате внутривенного введения ФМН с последующим лазерным облучением.

Внедрение в структуру природного фотосенсибилизатора наноразмерных апконвертирующих частиц, преобразующих кванты ближнего ИК диапазона спектра в УФ и синий свет, позволило не только фотоактивировать флавиномононуклеотид, но и реализовать фотодинамический эффект на большой глубине биоткани.

Достоверность результатов, полученных в диссертации, основана на изучении большого объема экспериментального материала, применения самых современных методов научного поиска, включая методы клеточных культур, оценки цитотоксичности, методы анализа форм клеточной гибели. Кроме того, использование конфокальной микроскопии при работе с ксенотрансплантатами, определение уровня генерации синглетного кислорода с помощью платинированных наноэлектродов еще больше подчеркнули высокий уровень проведенных экспериментальных исследований, необходимых для решения поставленных задач, а использованные статистические методы обеспечили абсолютную достоверность сформулированных выводов.

### **Содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа Шолиной Н.В. построена по классическому принципу и содержит все необходимые разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследования», «Обсуждение», «Выводы», «Список сокращений» и «Список литературы». Работа изложена на 127 страницах, хорошо иллюстрирована, содержит таблицы, облегчающие работу с данными. Работа написана хорошим научным языком.

Во *введении* автор обосновывает актуальность проблемы, формулирует цель и задачи исследования, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость проведенного исследования, методы и методологию исследования, формулирует предложения, выносимые на защиту, обосновывает достоверность, демонстрирует перечень значимых научных конференций, на которых была проведена апробация результатов исследования.

В главе «Обзор литературы» даётся исчерпывающая информация по теме диссертации, описываются общие принципы фотодинамической терапии, содержатся данные о рибофлавине как перспективном фотосенсибилизаторе для ФДТ. Приводятся данные о принципиальной физической возможности возбуждения фотосенсибилизатора лежащим весьма далеко от спектра поглощения препарата инфракрасным светом с использованием наноразмерных апконвертирующих частиц.

В главе «Материалы и методы» содержится вся необходимая информация по используемым в работе методам. Автором проведен анализ фототоксичности рибофлавина, установлены соответствующие концентрации фотосенсибилизатора и дозы облучения светом, его селективное накопление в опухолевых клетках и тканях, генерация активных форм кислорода при фотосенсибилизации, изучены механизмы клеточной гибели и проведена фототерапия с использованием флавинмононуклеотида, как самостоятельного фотосенсибилизатора, так и в комбинации с наноразмерными апконвертирующими фосфорами. Вместе с тем, в работе доказана полная биологическая безопасность рибофлавина и его мононуклеотида в виде отсутствия темновой фототоксичности.

В главе «Результаты собственных исследований» и «Обсуждение результатов» автор представляет полученные данные в нескольких подразделах, что делает материал удобным для восприятия. В главах описаны результаты исследований фототоксичности ФМН и его фотопродуктов *in vitro*, клеточного накопления, механизма клеточной гибели, вызываемой ФМН, измерения уровня АФК *in vitro*. Приводятся результаты исследования накопления ФМН *in vivo*, ФДТ первичной опухоли, опосредованного действия ФДТ на дистантную опухоль, исследования токсичности наноразмерных апконвертирующих фосфоров *in vitro*, доставки таких наночастиц в опухолевую ткань и результаты ФДТ солидных опухолей с комбинированным применением ФМН и наноразмерных апконвертирующих фосфоров. Обращает на себя внимание,

что большинство полученных данных представлено в виде рисунков, графиков и схем, что облегчает восприятие и наглядно позволяет оценить результаты диссертационной работы. Аргументированность полученных данных не вызывает сомнений.

Заключение является обобщением собственных результатов, подтверждает основные положения диссертации и служит основанием для формулирования выводов диссертации.

Выводы основаны на несомненно достоверных результатах проведённых исследований, четко сформулированы, научно обоснованы, соответствуют цели и задачам исследования.

*Список литературы* состоит из 265 источников, однако, в него включены, в основном, зарубежные работы. Автор цитирует работы как прошлых десятилетий, заложивших фундаментальные знания в области фотодинамической терапии, так и самые современные исследования.

Автореферат диссертации и 8 научных статей, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, полностью отражают научные положения и полученные диссертантом результаты исследования.

Диссертация написана хорошим литературным языком, легко читается. Работа в достаточной мере иллюстрирована. В тексте встречаются единичные опечатки и стилистические неточности, которые были оперативно устранены автором в ходе предварительного обсуждения, что значительно улучшило восприятие диссертации.

### **Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»**

Диссертационная работа Шолиной Натальи Валериевны «Фотодинамическая терапия солидных опухолей с применением фотосенсибилизатора эндогенной природы и наноразмерных апконвертирующих фосфоров» является законченным научно-квалификационным исследованием, которая содержит

решение актуальной задачи фундаментальной и экспериментальной онкологии, детального изучения взаимодействия фотосенсибилизирующего препарата с клетками и фотодинамической реакции, происходящей на глубине опухолевой ткани, что позволит контролировать этот процесс и повысить эффективность терапии без побочных реакций.

По новизне, теоретической и практической значимости диссертация Шолиной Н.В. соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Старший научный сотрудник научного отделения торакальной онкологии,  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,  
д.м.н.

Гельфонд Марк Львович

19.04.2021г.

Заместитель директора по научной работе

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,

Д.м.н., профессор



Щербаков Александр Михайлович

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68

8 (812) 43-99-555

oncl@rion.spb.ru