

«УТВЕРЖДАЮ»

Проект по научной работе
ФГБОУ ВО «МРУ им. Н. П. Огарёва»
д. Академик
А. В. Сенин
22 июня 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва" на диссертационную работу Шанвар Самах «Влияние покрытия альбумином на долговременную коллоидную стабильность и цитотоксичность антистоксовых нанофосфоров», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Актуальность темы диссертации

Среди современных направлений развития персонализированной медицины всё большее значение приобретает разработка и применение наноразмерных агентов, способных к эффективной визуализации патологических очагов и/или терапевтическому воздействию. Благодаря ряду уникальных свойств наночастицы различного состава могут выступать как в качестве носителей препаратов, так и самостоятельных терапевтических или визуализирующих модулей. Возможность получения наночастиц желаемого размера и формы, обладающих люминесцентными свойствами, позволило создать ряд многофункциональных агентов, способных визуализировать патологические очаги, отдельные клетки и субклеточные структуры. Среди люминесцентных наночастиц одними из наиболее перспективных представляются антистоксовые нанофосфоры (НАФ), биомедицинское применение которых постепенно перенесло от мультимодальной визуализации опухолей к эффективной терапии. В отличие от других флуоресцентных зондов, НАФ способны преобразовывать низко энергетическое инфракрасное излучение в более коротковолновое излучение с более высокой энергией, обладают исключительной фотостабильностью, способны визуализировать объекты в глубине биотканей и практически полностью избавлены от влияния автофлуоресценции тканей. Несмотря на модификации поверхности НАФ, они, как и другие наночастицы,

подвергаются воздействию компонентов биологической среды, а именно – неспецифической адсорбции белков на поверхности. Этот процесс, называемый образованием белковой короны, значительно меняет размер, заряд, форму и коллоидные свойства частиц, что отражается на их взаимодействии с целевыми клетками и общем эффекте их применения. Представленное в настоящей работе исследование возможностей направленного формирования белковой короны для получения стабильных люминесцентных агентов с желаемыми свойствами представляет несомненный интерес для развития биомедицинских технологий.

Достоверность результатов работы основана на использовании набора современных методов, значительном объёме полученных данных и их грамотной интерпретации. Результаты работы были опубликованы в российских и международных научных изданиях и представлены на ряде конференций. Результаты согласуются с литературой по данной тематике.

Научная новизна

Впервые показано, что использование денатурированного бычьего сывороточного альбумина (дБСА) позволяет получить дисперсию НАФ с лучшими характеристиками, чем при использовании нативного БСА. Определены оптимальные условия формирования стабильной белковой короны на поверхности НАФ в зависимости от концентрации БСА и дБСА.

Автором разработана методика получения коллоидно-устойчивых НАФ путем покрытия белковой короной из дБСА и последующей лиофилизации. Показано, что НАФ сохраняют свои свойства при последующей солюбилизации в различных растворителях, включая среды, содержащие сывороточные белки. Показано, что лиофилизированные комплексы НАФ-дБСА сохраняют свойства после длительного хранения.

Впервые показано, что покрытие дБСА значительно снижает нежелательную адсорбцию сывороточных белков на поверхности комплексов и позволяет сохранить их коллоидные свойства.

Значимость результатов для науки и практики

Исследование процесса образования белковой короны и его влияния на свойства наночастиц расширяет представления о взаимодействии искусственных наноагентов с белками среды организма и его последствиях. Результаты работы могут использоваться для получения диагностических и терапевтических агентов различной функциональности, не подверженных изменению свойств при попадании в

биологическую среду. Предложенная технология стабилизации белковой короной люминесцентных наночастиц может найти применение в разработке новых визуализирующих и терапевтических агентов для биомедицинских применений.

Характеристика содержания диссертации

Диссертационная работа С. Шанвар содержит список сокращений, введение, три главы, заключение, выводы и список литературы, включающий 117 источников. Объем диссертации составляет 114 страниц, включая 46 рисунков и 6 таблиц.

В Введении изложена актуальность темы исследования, обозначены цель и задачи, новизна, научная и практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту.

Глава 1 содержит обзор данных литературы, включающий анализ свойств антистоксовых нанофосфоров и их применение в биомедицинских исследованиях. Рассмотрены пути проникновения наночастиц в ткани и клетки и механизмы их выведения из организма. Описаны характеристики альбумина и его применение в качестве стабилизатора наночастиц, подходы к контролируемому образованию белковой короны.

В Главе 2 приведены использованные в исследовании методы, указаны материалы и оборудование. Методы соответствуют поставленным задачам. Раздел дополнен подробными схемами экспериментальных исследований, способствующими пониманию каждого этапа работы.

Глава 3 содержит результаты собственных исследований и их обсуждение. Охарактеризованы НАФ, покрытые оболочкой различного состава и подобраны оптимальные концентрации БСА и дБСА для образования жесткой белковой короны. Исследовано взаимодействие покрытых белковой короной НАФ с клетками линии СНО. Проведено сравнение методов осаждения комплексов НАФ-БСА – центрифугированием и лиофилизацией. Исследована долговременная стабильность лиофилизованных комплексов при хранении и сохранение ими коллоидных свойств при солюбилизации в различных средах. Продемонстрировано снижения адсорбции сывороточных белков на поверхности НАФ, предварительно покрытых дБСА. Исследована цитотоксичность полученных комплексов в сравнении с исходными НАФ.

Степень обоснованности научных положений и выводов диссертации

Исследование проведено с использованием общепринятых методов.

Экспериментальные данные корректно обработаны и проанализированы, выводы обоснованы и логично следуют из полученных результатов. Результаты и положения, изложенные в диссертации, неоднократно представлялись на конференциях и были рецензированы российскими и международными научными изданиями.

Соответствие содержания диссертации указанной специальности

Диссертационная работа Шанвар Самах «Влияние покрытия альбумином на долговременную коллоидную стабильность и цитотоксичность антистоксовых нанофосфоров» соответствует научной специальности 03.01.02 – биофизика, в том числе областям исследования «молекулярная биофизика» и «биофизика белка».

Публикации

По результатам, полученным при выполнении диссертационной работы, опубликовано 13 работ, в том числе пять научных статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах Web of Science и Scopus. Публикации в полной мере отражают содержание диссертационной работы.

Замечания и вопросы к работе

В работе были определены оптимальные концентрации БСА и дБСА для формирования стабильной белковой короны на поверхности НАФ в выбранной концентрации. Будет ли по мнению автора меняться соотношение концентраций НАФ и белка при изменении концентрации НАФ?

Позволяет ли использованный в работе метод динамического рассеяния света точно определить размеры множества агрегатов белка и наночастиц, отличающиеся на порядок и более, особенно при высоких значениях индекса полидисперсности?

Значения дзета-потенциала НАФ, покрытых дБСА, колеблется в широких пределах при различных концентрациях дБСА. Какие значения дзета-потенциала обеспечивают коллоидную стабильность наночастиц, покрытых белком, и какие ещё факторы оказывают на неё влияние?

Нужно пояснить, как согласуются данные о цитотоксичности НАФ для исследованной клеточной линии (SKOV-3) в зависимости от состава их оболочки, с результатами, полученными автором? Происходит ли поглощение наночастиц клетками и что при этом происходит с оболочкой, в том числе белковой?

В работе встречается небольшое количество опечаток и не однозначных формулировок, например:

Стр. 58 «Синтез водорастворимых НАФ» - имелось в виду гидрофильных?

Стр. 72 «биологические жидкости» - стоит конкретизировать, что имеется в виду
Стр. 92 «наповерхности нанокомплексов...»
Указанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают общей высокой оценки представленной работы.

Заключение

Диссертационная работа Шанвар Самах «Влияние покрытия альбумином на долговременную коллоидную стабильность и цитотоксичность антистоксовых нанофосфоров», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне, содержит результаты, обладающие новизной и научно-практической значимостью.

По актуальности, научной новизне, объему исследований, теоретической и практической значимости работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, а ее автор, Шанвар Самах, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - «Биофизика».

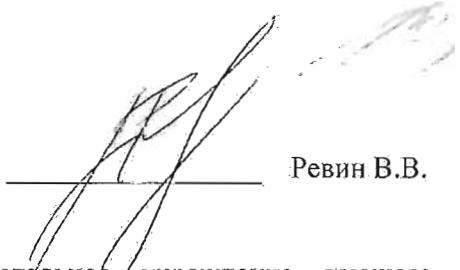
Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на заседании кафедры биотехнологии, биоинженерии и биохимии факультета биотехнологии и биологии МГУ им. Н.П. Огарёва (протокол №37 от 21 июня 2021 г.)

Ревин Виктор Васильевич

Декан факультета биотехнологии и биологии

зав. каф. биотехнологии, биоинженерии и биохимии

д.б.н., профессор


Ревин В.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Почтовый адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевистская, д. 68

Тел.: +7 (8342) 243732; 472913

e-mail.: dep-mail@adm.mrsu.ru

«21» июня 2021 г.

