

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

Гениной Элины Алексеевны на диссертационную работу Крыловой Любови Владимировны «Конъюгаты металлокомплексов хлорина *еб* с ингибиторами тирозинкиназ как агенты для комбинированной фотодинамической терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный диссертационный Совет 24.2.340.06 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского, по специальности 1.5.2. Биофизика

### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Крыловой Любови Владимировны посвящена исследованию перспективности применения мультимодальных агентов на основе фотосенсибилизатора и низкомолекулярного мультикиназного ингибитора для комбинированной фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний. За последние десятилетия ФДТ утвердилась как клинически одобренный метод лечения ряда злокачественных новообразований. Накопленный опыт позволил выявить недостатки существующих фотосенсибилизаторов, включая их неоптимальное биораспределение, поглощение света за пределами «окна прозрачности» биотканей, недостаточную фотодинамическую эффективность, а также возможность формирования резистентности опухоли. Если первые из перечисленных причин хорошо известны и послужили основанием для многочисленных исследований в области синтеза новых фотоактивных соединений, то в отношении резистентности сведений накоплено гораздо меньше. Одной из возможных причин формирования резистентности считается активация защитных механизмов в клетках, расположенных в глубоких слоях опухоли. Вследствие ограничения проникновения оптического излучения в биоткани эти клетки подвергаются сублетальному фотодинамическому воздействию, а их выживание связано с запуском определенных молекулярных сигнальных путей. Перспективным решением этой проблемы может быть разработка агентов, объединяющих несколько действующих модулей, например, фотосенсибилизатор и ингибитор активности рецепторов факторов роста, участвующих в выживании облученных клеток. В настоящее время в мире получены единичные соединения с таким сочетанием активностей, однако, несмотря на отсутствие к настоящему моменту большого количества систематизированных данных, эти единичные работы продемонстрировали перспективность подхода для повышения эффективности ФДТ. В связи с этим, актуальность исследования, проведенного диссертантом, не вызывает сомнения.

## **Достоверность и обоснованность результатов работы**

Автор диссертационной работы провел детальный анализ и систематизацию результатов собственных научных изысканий, выполненных с соблюдением методологических стандартов. Полученные данные были подвергнуты тщательному статистическому анализу, что обеспечило их объективную интерпретацию и достоверность. Основные научные положения и выводы работы изложены логически последовательно, подкреплены надежными доказательствами, а содержание автореферата полностью соответствует материалам диссертации, отражая её ключевые аспекты.

## **Научная новизна работы**

В представленной работе впервые комплексно исследованы фотофизические, фотохимические и биологические свойства двух новых мультимодальных агентов на основе фотосенсибилизатора хлоринового ряда и низкомолекулярного мультикиназного ингибитора для комбинированной фотодинамической терапии. Впервые продемонстрирован синергический характер взаимодействия двух терапевтических модулей в составе исследуемых агентов. Показана высокая противоопухолевая активность соединений в отношении опухолевых моделей с повышенной экспрессией рецепторов, являющихся мишенью действия низкомолекулярных ингибиторов.

## **Практическое значение результатов работы**

Практическая значимость полученных результатов обусловлена получением в ходе исследования новых фундаментальных сведений об особенностях комбинированного действия на опухолевые клетки фотосенсибилизатора и таргетных агентов. Полученные данные могут быть использованы для создания новых противоопухолевых препаратов. Перспективы внедрения связаны с дальнейшими доклиническими и клиническими испытаниями предложенных соединений. Кроме этого, установленные закономерности будут полезны при рациональном дизайне новых противоопухолевых агентов. Полученные результаты также могут быть включены в специализированные курсы и лекции по биофизике, биомедицине, медицинской химии.

## **Личный вклад автора**

Автором лично проведён комплекс экспериментальных исследований, включая регистрацию фотофизических и фотохимических характеристик, биологические исследования *in vitro* и *in vivo*, а также выполнен анализ всех собранных данных. Автор принимала непосредственное участие в обсуждении результатов и в подготовке научных статей и докладов на конференциях.

## **Печатные работы, опубликованные по материалам диссертационной работы**

По материалам диссертации опубликовано 34 научных работы, из них 7 – статьи в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), рекомендованных ВАК, 2 статьи в иных изданиях, а также 25 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях. Получен патент РФ на изобретение.

### **Анализ основного содержания работы**

Структура диссертации выстроена по классическому плану и включает введение, обзор литературы, детальное описание использованных в работе материалов и методов, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, а также перечень цитируемых литературных источников. Во введении обоснована значимость рассматриваемой темы, чётко сформулированы цель и задачи исследования, приведён перечень утверждений, демонстрирующих её научную новизну и практическую значимость, а также приведен перечень положений, выносимых автором на защиту.

Литературный обзор посвящён физико-химическим свойствам фотосенсибилизаторов, принципам и механизмам их действия, основным мировым тенденциям в области фотодинамической терапии, перспективам комбинированной фотодинамической терапии, в том числе при объединении фотосенсибилизаторов с низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназ.

Во второй главе детально рассмотрены объекты исследования, используемые реактивы и оборудование. Представлены методики, обеспечившие проведение экспериментальной части работы, в том числе подробные описания схем экспериментов на клеточных и животных моделях.

В третьей главе приведены результаты проведенных исследований и их обсуждение. В рамках представленного исследования были изучены два соединения, в которых было по-разному реализовано объединение фотосенсибилизатора и мультикиназного ингибитора. Первое из соединений представляет собой конъюгат индиевого комплекса хлорина *еб* и вандетаниба; второе соединение является конъюгатом цинкового комплекса хлорина *еб* и кабозантиниба, при этом связь реализована через ферментативно расщепляемый линкер. Для обоих соединений были определены фотофизические, фотохимические и биологические свойства. Продемонстрировано, что оба соединения способны эффективно генерировать активные формы кислорода при облучении светом в красной области спектра, что является одним из ключевых требований, предъявляемых к агентам для ФДТ. Также показана высокая фотодинамическая активность исследуемых конъюгатов в отношении опухолевых клеток. А рассчитанный индекс комбинации свидетельствует о синергическом действии фотосенсибилизатора и низкомолекулярного ингибитора. Этот результат важен для последующих исследований, поскольку синергизм позволяет достичь существенно большего

терапевтического эффекта без необходимости повышать дозы вводимых агентов и, как следствие, снизить риски развития побочных эффектов. Для обоих соединений на разных моделях опухолевого роста показана эффективность в отношении опухолевых клеток, несущих целевой рецептор, EGFR или HGFR для вандетаниба и кабозантиниба соответственно. Диссертантом также обосновывается, что использование расщепляемого линкера способствует повышению синергизма при взаимодействии модулей за счет снятия стерических ограничений.

Полученные результаты демонстрируют перспективность подхода создания мультимодальных агентов для комбинированной фотодинамической терапии на основе тетрапиррольного фотосенсибилизатора и низкомолекулярных мультикиназных ингибиторов. Результаты диссертационной работы могут служить основой для разработки новых противоопухолевых препаратов и подходов, направленных на повышение эффективности противоопухолевой терапии.

В заключительной части работы автор в сжатой форме излагает ключевые результаты исследования и проводит их анализ, сопоставляя с имеющимися литературными сведениями.

Выводы диссертационной работы достоверно отражают полученные данные и в полной мере соответствуют заявленным целям и задачам исследования.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации и автореферата**

Диссертация Крыловой Л.В. выполнена в соответствии с классическими требованиями. Хочется отметить полноту и высокое качество анализа современного состояния проблемы, выполненного в обзорной части. Список цитируемой литературы включает 424 публикации, значительная часть которых опубликована в течение последних 5 лет, что свидетельствует о детальной проработке автором изучаемой области науки. Работа представляет собой цельное научное исследование. В обсуждении автор детально анализирует полученные результаты, сопоставляя их с данными мировой литературы, что позволяет сформировать целостное представление о проделанной работе и определить место полученных выводов в контексте современных исследований по данной проблематике. Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях и съездах в России (Нижний Новгород, Москва, Санкт-Петербург, Севастополь) и за рубежом (Великобритания), а также на мероприятиях, проведенных в виртуальном формате. По результатам работы опубликовано 7 научных статей в журналах, индексируемых международными базами цитирования Web of Science и Scopus, и 25 тезисов в сборниках конференций. Проведенные исследования получили финансовую поддержку Минобрнауки РФ и Российского научного фонда.

Автореферат в полной мере отражает содержание ключевых разделов диссертации и представленные автором результаты. В нём изложены актуальность исследования, цели и задачи исследования, научная новизна, научно-практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, а также описаны объекты и методы исследования, основные результаты работы и их обсуждение, заключение, выводы и перечень публикаций по теме диссертации.

Материал диссертации оставляет положительное впечатление, к незначительным недостаткам можно отнести, на мой взгляд, только присутствие опечаток в тексте. Однако возникло несколько вопросов, в частности:

1. На чём основывается выбор времени между инъекцией фотосенсибилизатора InChl-Vnd и облучением. Автор пишет, что «для проведения ФДТ был выбран 8-ми часовой лекарственно-временной интервал с целью оптимизации баланса между эффективностью лечения и минимизацией побочных эффектов». Однако оценка накопления агентов в опухоли проводилась через 4 и 24 часа.
2. В какой момент наступал максимальный контраст содержания фотосенсибилизатора в опухоли?
3. Какие побочные эффекты имелись в виду?
4. Автор также пишет: «При проведении ФДТ через 8 часов после инъекции в дозе 50 Дж/см<sup>2</sup> с данным соединением терапевтический эффект был наиболее выражен». Исследовались ли автором другие лекарственно-временные интервалы, которые показали менее эффективные результаты или этот вывод основан на литературных данных?

Высказанные замечания носят рекомендательный характер и ни в коей мере не снижают значимость полученных результатов.

Следует заключить, что диссертационная работа Крыловой Любови Владимировны «Конъюгаты металлокомплексов хлорина *eb* с ингибиторами тирозинкиназ как агенты для комбинированной фотодинамической терапии», выполненная под научным руководством Балалаевой Ирины Владимировны, кандидата биологических наук, доцента является оригинальным законченным научным исследованием, выполненным на высоком теоретическом и методическом уровне.

По новизне полученных результатов, их фундаментальной и практической значимости диссертационная работа Крыловой Любови Владимировны соответствует требованиям действующей редакции «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013

года № 842, а её автор Крылова Любовь Владимировна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика.

Профессор кафедры оптики и биофотоники  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Саратовский национальный исследовательский  
государственный университет имени Н.Г.  
Чернышевского»,

д.ф.-м.н., доцент Генина Элина Алексеевна

 Генина Э.А.

02.06.2025

Адрес организации: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (СГУ)

Телефон: +7 (8452) 26 – 16 – 96

Сайт организации: <https://www.sgu.ru>

