

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Кушлинского
Николая Евгеньевича на диссертацию Наumenко Виктора Алексеевича на
тему «Механизмы трансэндотелиального переноса частиц наноразмерного
диапазона в микроциркуляторном русле опухолей» на соискание ученой
степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия и
1.5.22. Клеточная биология.**

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Наumenко В.А. посвящена чрезвычайно актуальной теме – исследованию свойств инновационных средств терапии злокачественных заболеваний, в частности, наночастиц различной природы и онколитических вирусов. Несмотря на огромный интерес к данным подходам с точки зрения их практической значимости, данные об эффективности доставки наноразмерных препаратов в опухоль остаются противоречивыми. В этом смысле применение метода интравитальной микроскопии для анализа динамики распределения и механизмов проникновения наночастиц и вирусов в опухоль в режиме реального времени позволяет получить новую важную информацию, релевантную по отношению к выбору стратегии и условий терапевтических воздействий. Именно этот аспект стоит в центре исследований Наumenко В.А. и именно в этом состоит основная теоретическая и практическая ценность данной диссертационной работы.

Структура диссертации

Диссертационная работа Наumenко В.А. построена по традиционному плану и включает классические основные разделы – «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение».

«Выводы». Работа изложена на 394 страницах печатного текста и иллюстрирована 191 рисунком и 3 таблицами. Список цитируемой литературы содержит 582 источника.

Глава «Обзор литературы» представляет собой достаточно подробные сведения о современном состоянии исследований по данной проблеме, особое внимание автор уделяет роли клеточных элементов крови и перицитов в биораспределении нанопрепаратов. К достоинствам обзора следует отнести наличие краткого обобщения по каждому разделу, оформленное в виде выводов, что существенно облегчает получение читателем общего представления о рассматриваемых проблемах.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны все экспериментальные процедуры, использованные в работе. Следует отметить, что спектр применяемых методов весьма широк и включает как методы получения и оценки свойств нанопрепаратов, так и молекулярные и клеточные технологии, в частности разнообразные модальности биоимиджинга. К чести автора, повсеместно указано, какие исследования проводились им в сотрудничестве с другими специалистами.

В разделе «Результаты» приведено подробное описание проведенных экспериментов, которые исследователь проводил по нескольким направлениям. Значительные усилия были направлены на получение наночастиц и онколитических вирусов, пригодных для использования в формате интравитальной микроскопии. При этом, использованные в работе нанопрепараты, тщательно охарактеризованы с точки зрения их биологических свойств. Одним из главных достижений автора является собственно оптимизация протоколов мечения и наблюдения за нанопрепаратами *in vivo* при помощи интравитальной микроскопии. При этом сразу несколько аспектов биораспределения наночастиц и онколитических вирусов стало предметом особого внимания: 1) кинетика распределения нанопрепаратов; 2) механизмы их экстравазации; 3) роль клеточных элементов в процессе перемещения

нанопрепаратов из кровяного русла в опухоль. На этих направлениях Науменко В.А. получил наиболее важные результаты, которые имеют большое теоретическое и практическое значение. Так, автор обнаружил, что экстравазация наночастиц осуществляется двумя путями, причем эти пути могут различаться для частиц различной природы. Например, для металлических наночастиц характерен как выход в результате нарушения целостности эндотелия (микро- и макроутечки), так и захват и перенос их мигрирующими нейтрофилами. В тоже время, для липосом второй путь не характерен, хотя они могут следовать за мигрирующими клетками по каналам, создаваемым последними. Важно отметить, что и после экстравазации наночастицы помимо опухолевых клеток накапливаются в макрофагах и перицитах. Эту особенность необходимо учитывать при потенциальном использовании наночастиц в терапии опухолей.

Очень интересные результаты получены при изучении возможных механизмов выведения наночастиц почками. В.А. Науменко показал возможность проникновения магнитных наночастиц большого размера в почечные канальца непосредственно путем трансцитоза из капилляров в тубулярный эпителий, т.е. минуя клубочковую фильтрацию. Эти новые данные требуют пересмотра наших знаний и представлений о механизмах функционирования почек и имеют важное практическое значение.

Что касается онколитических вирусов, то в диссертационной работе Науменко В.А. обнаружил, что помимо клеток опухоли, мишенями их могут быть и клетки опухолевого микроокружения, в первую очередь перициты и моноциты. Возможно, эта особенность объясняет достаточно неожиданный результат, связанный с различиями в эффектах первой и второй дозы вирусов. Автор предполагает, что именно взаимодействие вирусов с клетками микроокружения стимулирует противоопухолевый ответ при повторном введении вируса.

Научная значимость и новизна

Научная значимость исследования заключается в обосновании схем противоопухолевой терапии, исходя из особенностей поведения наночастиц и онколитических вирусов при их повторном введении. В работе Науменко В.А. показал, что несмотря на различные механизмы противоопухолевой активности первой и второй доз онколитического вируса, повторное введение препарата позволяет достичь более выраженного терапевтического эффекта, чем однократная инъекция. Напротив, первая и вторая дозы липосом демонстрируют идентичное поведение *in vivo*, что позволяет использовать диагностическую дозу магнитно-контрастных липосом для индивидуального прогнозирования эффективности лечения липосомальными препаратами. Кроме того, обнаружение нового механизма выведения крупных наночастиц в почках открывает возможность использования нанопрепаратов для диагностики и лечения нефрологических заболеваний. Выявление нейтрофил-ассоциированного транспорта наночастиц в опухоль дает обоснование использования этих клеток в качестве векторов доставки препаратов. Идентификация перицита как новой клетки-мишени в опухолевом микроокружении, общей для липосом и онколитических вирусов, открывает перспективу разработки принципиально новых схем противоопухолевой терапии. В частности, это может быть использовано для доставки с помощью нанопрепаратов к перицитам молекул и генов, обладающих антиангиогенными свойствами.

Обоснованность сформулированных положений и выводов

Достаточно большой объем проведенных исследований, современный методический уровень, использование высокотехнологичных, чувствительных, аналитически надежных методов иммунохимического и биохимического анализа, применение интравитальной микроскопии и проточной цитометрии (с панелью флюоресцентных конъюгатов антител, включающей около 30 поверхностных маркеров) и других высокоспецифичных методов исследования,

современного пакета программ статистического анализа, адекватных поставленным задачам, обуславливает статистическую значимость и обоснованность результатов выполненного диссертационного исследования.

Научные положения и практические рекомендации четко аргументированы и статистически значимы. Выводы диссертации полностью соответствуют объему проделанной работы и отражают сущность исследования.

По результатам диссертации опубликовано 15 статей в зарубежных и отечественных журналах из списка ВАК, в том числе 9 – в изданиях, входящих в первый квартиль (Q1) по импакт-фактору JCR Science Edition или JCR Social Sciences Edition. Опубликованные работы отражают основные положения диссертационного исследования. Результаты исследования апробированы выступлениями, которые представлены на различных конференциях. Автореферат соответствует тексту диссертации.

Замечания и рекомендации

Замечаний по работе не имею, однако хотелось бы обсудить с автором возможности и перспективы использования интравитальной микроскопии, как диагностического метода для клинической практики.

Заключение

Диссертационная работа Науменко Виктора Алексеевича «Механизмы трансэндотелиального переноса частиц наноразмерного диапазона в микроциркуляторном русле опухолей» представляет собой самостоятельное законченное научно-квалификационное исследование, которое содержит решение актуальной научной проблемы медицинской биохимии и биотехнологии, а именно, - повышение эффективности противоопухолевой терапии за счет рационального использования нанопрепаратов и онколитических вирусов. По своей форме, методам исследования, научному содержанию, актуальности изучаемой проблемы, объему полученного автором

материала, уровню аналитической и статистической обработки, обоснованности сформулированных выводов, новизне и значимости положений, выносимых на защиту, диссертация Науменко Виктора Алексеевича соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168; от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Науменко В.А. достоин присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия и 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
заведующий лабораторией клинической биохимии
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России



*согласен на сбор, обработку, хранение
и передачу моих персональных данных*
Кушлинский Николай Евгеньевич

« 1 » сентября 2022 г.

Подпись доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Кушлинского
Николая Евгеньевича «заверяю»

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России,

кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, +7 (499) 324-24-24

info@ronc.ru, www.ronc.ru