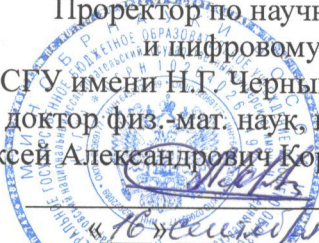


УТВЕРЖДАЮ:
Проректор по научной работе
и цифровому развитию
ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»
доктор физ.-мат. наук, профессор
Алексей Александрович Короновский



«16» *сентября* 2024 года

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по диссертации Гусяковой Ольги Игоревны «Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения» на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. — «Биофизика», выполненной в Научном медицинском центре ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского».

Тема диссертационной работы утверждена приказом ректора ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» от 31 марта 2023 года № 73 — Д.

В 2010 году Гусякова Ольга Игоревна окончила государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по направлению подготовки 03.04.03 «Радиофизика» с присуждением степени «Магистр Радиофизики». В 2020 году Гусякова Ольга Игоревна закончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по направлению подготовки в аспирантуре 03.06.01 Физика и астрономия, направленность Биофизика, с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь».

Гусякова Ольга Игоревна была прикреплена для написания диссертации на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности «Биофизика» с 01 ноября 2022 года сроком на 3 года (до 01 ноября 2025 года) согласно приказу № 147-Д от 26.10.2022 г.

Справка о сданных кандидатских экзаменах № 2-2024 выдана 12.03.2024 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель – Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, профессор центра фотоники и фотонных материалов Сколковского института науки и технологий, утверждённый приказом ректора СГУ №159-Д от 08.11.2022 г., представил положительный отзыв о диссертации и соискателе.

Научную экспертизу диссертация проходила на совмещенном заседании Научного медицинского центра и кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» с приглашением специалистов по профилю диссертации.

На заседании присутствовали:

1. *Тучин Валерий Викторович*, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой оптики и биофотоники СГУ, руководитель Научного медицинского центра СГУ.

2. *Генина Элина Алексеевна*, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники СГУ.
3. *Симоненко Георгий Валентинович*, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники СГУ.
4. *Иноземцева Ольга Александровна*, кандидат химических наук, заместитель руководителя Научного медицинского центра СГУ по инновациям.
5. *Бучарская Алла Борисовна*, кандидат биологических наук, заместитель руководителя Научного медицинского центра СГУ по медицинским исследованиям.
6. *Караваев Анатолий Сергеевич*, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой динамического моделирования и биомедицинской инженерии СГУ.
7. *Хлебцов Борис Николаевич*, доктор физико-математических наук, директору ФИЦ СНЦ РАН.
8. *Сердобинцев Алексей Александрович*, кандидат физико-математических наук, и.о. заведующего лабораторий биомедицинской фотоакустики и “Дистанционно управляемые системы для тераностики” Научного медицинского центра СГУ, доцент кафедры материаловедения, технологии и управления качеством СГУ.
9. *Свенская Юлия Игоревна*, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории “Дистанционно управляемые системы для тераностики” Научного медицинского центра СГУ.
10. *Браташов Даниил Николаевич*, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры инноватики СГУ.
11. *Лазарева Екатерина Николаевна*, кандидат физико-математических наук, ведущий инженер учебной лаборатории атомной физики, квантовой электроники и спектроскопии СГУ.
12. *Кожевников Илья Олегович*, заведующий учебной лаборатории по полупроводниковой электронике СГУ.
13. *Савельева Мария Сергеевна*, младший научный сотрудник лаборатории “Дистанционно управляемые системы для тераностики” Научного медицинского центра СГУ.
14. *Сурков Юрий Игоревич*, младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской фотоакустики Научного медицинского центра СГУ.
15. *Серебрякова Изабелла Анатольевна*, инженер учебной лаборатории атомной физики, квантовой электроники и спектроскопии, институт физики СГУ.
16. *Горин Дмитрий Александрович*, доктор химических наук, профессор центра фотоники и фотонных материалов Сколковского института науки и технологий.

Рецензенты диссертации:

Караваев Анатолий Сергеевич, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой динамического моделирования и биомедицинской инженерии СГУ представил положительный отзыв.

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, профессор, директор Института химии представила положительный отзыв.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Гусликовой О.И. посвящена выяснению биофизических закономерностей распределения и деградациии частиц ватерита при пассивной адресации (i) в легкие в результате интратрахеального введения, (ii) в привитую подкожно аденокарциному при внутривенном введении, (iii) в волосяные фолликулы при наружной аппликации.

Научная новизна исследования

1. Показана возможность доставки и распределения частиц ватерита субмикронного размера (0.65 ± 0.17 мкм) в альвеолярной части легких мыши при интратрахеальном

введении в следствии преимущественного влияния процесса диффузии на движение частиц малого размера в потоке и малых чисел Стокса.

2. Показана успешная доставка фермента барназа в составе формуляции на основе частиц ватерита (300 – 500 нм) с оболочкой функционализированной аптамером к ЕрСАМ в альвеолярную часть легких после интратрахеальной инстилляции и удержание в целевом органе за счет лиганд-рецепторного взаимодействия.
3. Показано замедление процесса диссоциации и перекристаллизации частиц ватерита (0.65 ± 0.17 мкм) при взаимодействии с компонентами бронхоальвеолярного лаважа мыши *in vitro* в следствии связывания с поверхностью частиц и препятствования покиданию ионов Ca^{2+} .
4. Изучены и объяснены биофизические закономерности адгезии частиц ватерита с агентом фотодинамической терапии к эндотелию капилляров опухоли в следствии аномалий сосудистой сети, характеризующихся медленной скоростью кровотока и извилистой архитектурой, с последующим высвобождением лекарственного средства, которое частично распространяется из капилляра в интерстиций опухоли.
5. Построена математическая модель и проведено численное моделирование зависимости создаваемой концентрации порфиразина в интерстиции опухоли на фиксированном расстоянии от капилляра ($r = 50$ мкм) от времени. Проведено сравнение с ранее представленной моделью медленно высвобождающих частиц на основе сополимера молочной и гликолиевой кислот.
6. Подтверждена большая эффективность ингибирования роста дрожжеподобных грибов рода *Candida* в случае использования частиц ватерита с иммобилизованным нафтифином по сравнению со свободной формой данного антимикотика за счет эффекта длительного высвобождения.
7. Изучены биофизические закономерности проникновения и постепенной деградации частиц ватерита, содержащих противогрибковый препарат, по всей длине волосяного фолликула мыши после нанесения суспензии частиц на кожу и внедрения опосредованного применением терапевтического ультразвука (с частотой 1 МГц, мощностью 0.5 Вт/см^2 , длительностью воздействия 3 минуты).

Научная и практическая значимость

В настоящей работе приведены результаты изучения биораспределения частиц ватерита при различных способах введения (интратрахеальном, внутривенном и трансфолликулярном), обосновано их преимущество с позиции биофизических процессов, протекающих в здоровых и патологических тканях и органах, определены методики обеспечивающие эффективную локализацию в целевых органах. В частности, был определен оптимальный средний диаметр частиц ватерита (0.65 ± 0.17 мкм) для эффективной аккумуляции флуоресцентного сигнала в легких в течение нескольких дней (не менее 72 часов) после интратрахеальной инстилляции за счет способности частиц проникать и распределяться в альвеолярной области. Предварительные оценки также показали превосходство частиц ватерита субмикронного размера в связи с преимущественным влиянием процессов диффузии при прохождении частицами воздухоносных путей и размещении в дистальных областях легких.

Была успешно продемонстрирована альтернативная стратегия доставки лекарств в паренхиму опухоли при внутрисосудистом введении, не основанная на эффекте повышенной проницаемости и удержания (EPR). Частицы ватерита с лекарством (порфиразин) пассивно накапливались в аномальной сосудистой сети опухоли, характеризующейся медленной скоростью кровотока, после внутривенной инъекции. Указанные частицы прикреплялись к эндотелию капилляров и высвобождали лекарственное средство, которое распространялось из капилляра в интерстиций опухоли. Быстрое высвобождение лекарства из частиц ватерита

в данной ситуации представляло собой ключевое преимущество в рамках представленной концепции.

Также данное исследование показало ряд преимуществ использования частиц ватерита в качестве носителей противогрибкового препарата нафтифина для адресации в глубокие слои кожи через волосяные фолликулы. С помощью сканирующей электронной микроскопии было наглядно продемонстрировано проникновение частиц ватерита на всю глубину волосяного фолликула и их медленная деградация, что рассматривается как способность обеспечить доставку лекарственного препарата в глубокие слои дермы.

Одним из наиболее значимых практических результатов настоящей работы является подтверждение того факта, что, субмикронные пористые частицы ватерита (средний размер < 700 нм) способны обеспечить значимые преимущества при выборе тактик лечения различных заболеваний. Так, например, в разработке стратегии терапии различных заболеваний легких можно опираться на иммобилизацию лекарственного вещества в частицы ватерита, как матрицу-носитель, и высвобождение лекарства только после достижения дыхательной части. Ряд заболеваний легких, включая хроническую обструктивную болезнь легких и острое поражение легких, имеют значительную долю воспаления в этих областях как компонент их патофизиологии. Кроме того, взаимодействие с компонентами легочного сурфактанта будет вызывать медленное высвобождение лекарства, что может быть полезно при лечении хронических заболеваний легких, таких как эмфизема. Формуляция с направляющим вектором, включающая в себя частицы ватерита, в качестве ядра, и фермент барназа, в качестве компонента оболочки, могут быть эффективны при лечении раковых заболеваний и вирусных инфекций, включая коронавирусные заболевания человека. Результаты, полученные при исследовании накопления частиц ватерита в опухоли после внутривенного введения с последующим быстрым высвобождением лекарственного средства (порфиразином), могут быть использованы в усовершенствовании тактик проведения терапии онкологических заболеваний препаратами, характеризующимися высокой токсичностью, так как подобные формуляции способны обеспечить локально в опухоли высокую концентрацию иммобилизованного лекарственного средства.

Апробация работы:

Основные результаты диссертационной работы были представлены на российских и международных конференциях:

1. Британско-российская школа-семинар «Patient-tailored biomaterials for tissue regeneration, combating microbial contamination and drug delivery» (2–4 октября 2019 г., Ланкастер, Великобритания);
2. 7-й Международный симпозиум «Оптика и биофотоника», Saratov Fall Meeting 2019 (23-27 сентября 2019 г., Саратов, Россия);
3. 6-й Международный симпозиум «Оптика и биофотоника», Saratov Fall Meeting 2018 (24-28 сентября 2018 г., Саратов, Россия);
4. Юбилейная конференция по медицинской микологии и микробиологии (11-12 апрель, 2018г., Москва, Россия);
5. Объединенная конференция Американского сообщества клеточной биологии и Европейской организации молекулярной биологии 2017(ASCB-EMBO/ 2017 Meeting) (2-6 декабря 2017г., Филадельфия, США);
6. 21-й Международный симпозиум «Surfactants in Solution» (5-11 июня, 2016г., Джинан, КНР);
7. 7-я Международная конференция «Nanoparticles, Nanostructured Coatings and Microcontainers: Technology, Properties, Applications» (12-15 мая 2016 г., Томск, Россия).

Исследования, представленные в диссертации, выполнены при финансовой поддержке следующих проектов: «Дистанционно управляемые наноструктурированные системы для адресной доставки и диагностики» в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования (договор №14.Z50.31.0004 от 4 марта 2014); «Субмикронные мезопористые частицы ватерита для трансдермальной доставки биологически активных веществ» в рамках гранта РНФ №17-73-20172; «Фотоакустические технологии для ранней тераностики метастатических опухолей» в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования (договор №14.Z50.31.044 от 5 февраля 2018); стажировка в Ратгерс (университет штата Нью-Джерси) в рамках победы на Всероссийском открытом конкурсе для назначения стипендии Президента РФ для обучающихся за рубежом в 2019/2020 учебном году; стипендия Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

Личный вклад

Личный вклад автора состоит в самостоятельном выполнении представленных в диссертации экспериментальных исследований и расчетов, а именно синтез, визуализация и характеристика исследуемых носителей, определение эффективности загрузки и высвобождения из ватеритных контейнеров модельных и терапевтических веществ, визуализации как отдельных биологических тканей методами лазерной сканирующей конфокальной и сканирующей электронной микроскопии, так и всего организма в целом методами флуоресцентной томографии. Постановка исследовательских задач и обсуждение результатов проведены под руководством профессора Д.А. Горина (Сколковский институт науки и технологий, г. Москва). Экспериментальные исследования проводились совместно с сотрудниками и на оборудовании лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» (Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»). Исследования, направленные на определение оптимальных параметров частиц ватерита для обеспечения доставки лекарственных средств в нижние отделы легких, были проведены совместно с профессором Ратгерс (Университет штата Нью-Джерси) Эндрю Гоу и научным сотрудником отделения медицины университета Пенсильвании Е.Н. Агочиной-Вассерман. Сравнительное исследование эффективности локализации и удержания носителей на основе ватеритных частиц в отсутствие и присутствии векторных молекул на поверхности после интратрахеальной инстилляцией было выполнено совместно с профессором Сколковского института науки и технологий А.М. Яценком. Изучение изменения характера биораспределения препарата для ФДТ при его иммобилизации в субмикронные частицы ватерита и внутривенном введении было выполнено совместно с сотрудниками лаборатории оптической тераностики Нижегородского государственного университета имени Н.И. Лобачевского при научной консультации профессора А.В. Звягина. Применение ватеритных контейнеров для доставки противогрибкового препарата в волосяные фолликулы было выполнено совместно со старшим научным сотрудником лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» СГУ Ю.И. Свенской.

Достоверность результатов исследования

Подтверждается хорошей воспроизводимостью полученных результатов, их соответствием данным, полученным другими авторами и опубликованным в современной литературе, а также фактом прохождения их критического рассмотрения рецензентами перед публикацией. Достоверность экспериментальных результатов была обеспечена применением современной измерительной аппаратуры, сертифицированной в соответствии с

международными стандартами качества, и использованием стандартизированных методик проведения измерений. Все выявленные и сформулированные в работе закономерности основаны на строгом анализе полученных результатов с помощью принятых статистических методов обработки данных.

Соответствие диссертации научной специальности

Диссертация Гуслияковой Ольги Игоревны «Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения», посвященная выяснению биофизических закономерностей распределения и деградации частиц ватерита при пассивной адресации (i) в легкие в результате интратрахеального введения, (ii) в привитую подкожно аденокарциному при внутривенном введении, (iii) в волосяные фолликулы при наружной аппликации соответствует научной специальности 1.5.2. – Биофизика в части п.1.3, п. 1.4, п.3, п.4 паспорта специальности.

Полнота изложения материалов диссертации в научных работах, опубликованных соискателем

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 5 статей в журналах перечня, рекомендованного ВАК, включая 4 работы, относящиеся к Q1 (WoS), 7 тезисов докладов на научных российских и международных конференциях.

Статьи в журналах и сборниках трудов ВАК, Scopus и Web of Science

1. Use of submicron vaterite particles serves as an effective delivery vehicle to the respiratory portion of the lung [Текст] / **Gusliakova, O.**, Atochina-Vasserman, E. N., Sindeeva, O., Sindeev, S., Pinyaev, S., Pyataev, N., Viktor Revin, Gleb B. Sukhorukov, Dmitry Gorin, Gow, A. J. // *Frontiers in pharmacology*. – 2018. – Т. 9. – С. 559. (Q1, IF 4.4)
2. Спектральный мониторинг процесса иммобилизации препарата нафтифин в субмикронные частицы ватерита [Текст] / **Гуслиякова, О. И.**, Ленгерт, Е. В., Аткин, В. С., Тучин, В. В., & Свенская, Ю. И. // *Оптика и спектроскопия*. – 2019. – Т. 126. – №. 5. – С. 620-626. (Q4, IF 0.7)
3. Transdermal platform for the delivery of the antifungal drug naftifine hydrochloride based on porous vaterite particles [Текст] / **Gusliakova, O.**, Verkhovskii, R., Abalymov, A., Lengert, E., Kozlova, A., Atkin, V., Olga Nechaeva, Anna Morrison, Valery Tuchin, Svenskaya, Y. // *Materials Science and Engineering: C*. – 2020. – С. 111428. (Q1, IF 8.4)
4. A method of drug delivery to tumors based on rapidly biodegradable drug-loaded containers [Текст] / Parakhonskiy B. V., Shilyagina N. Y., **Gusliakova O.I.**, Volovetskiy A.B., Kostyuk A.B., Balalaeva I.V., Klapshina L.G., Lermontova S. A., Tolmachev V., Orlova A., Gorin D.A., Sukhorukov G.B., Zvyagin A.V // *Applied Materials Today*. – 2021. – Т. 25. – С. 101199. (Q1, IF 8.3)
5. Barnase-Loaded Vaterite Nanoparticles Functionalized by EpCAM Targeting Vectors for the Treatment of Lung Diseases [Текст] / Abakumova T. O., **Gusliakova O. I.** et al. // *ACS Applied Nano Materials*. – 2022. – Т. 5. – №. 8. – С. 10744-10754. (Q1, IF 5.4)

Тезисы докладов конференции:

1. Submicron vaterite particles are promising drug carriers in treatment of pulmonary disease // UK-Russia Workshop “Patient-tailored biomaterials for tissue regeneration, combating microbial contamination and drug delivery” (2nd – 4th October, 2019, The Storey, Lancaster, UK) – постерный доклад.
2. In vivo study of vaterite particle biodistribution and pharmacokinetics of fluorescent dye adsorbed on it after instillation to mice lungs // 7th International Symposium “Optics and Biophotonics”, Saratov Fall Meeting 2019 (23-27 September, 2019, Saratov, Russia) – постерный доклад

3. Use of submicron vaterite particles serves as an affective delivery vehicle to the respiratory portion of the lung // ASCB-EMBO / 2017 Meeting (2-6 December, Philadelphia, USA) – постерный доклад
4. Polymorphism of Calcium Carbonate Microparticles Incubated with Rat Large and Small Aggregate Pulmonary Surfactant – Fraction // 21st International Symposium on Surfactants in Solution (5-11 June, 2016, Jinan, China) – устный доклад
5. Size-dependent biodistribution of vaterite particles in the mice lungs // 7th International Conference “Nanoparticles, Nanostructured Coatings and Microcontainers: Technology, Properties, Applications” (12-15 May, 2016, Tomsk, Russia) – устный доклад
6. Immobilization of antifungal agent “Naftifine” in porous calcium carbonate particles // 6th International Symposium “Optics and Biophotonics”, Saratov Fall Meeting 2018 (24-28 September, 2018, Saratov, Russia) – постерный доклад
7. Immobilization of the antifungal drug Naftifine in the porous vaterite particles // Conference on Mycology and Microbiology (11-12 April, 2018, Moscow, Russia) – постерный доклад

Общая оценка диссертации

Диссертационная работа Гусяковой Ольги Игоревны «Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей сведения об особенностях биораспределения частиц ватерита в легких в результате интратрахеального введения, в привитой подкожно опухоли при внутривенном введении, в волосяных фолликулах при наружной аппликации. В диссертации решены задачи подбора оптимальных параметров введения частиц ватерита, обеспечивающие эффективную аккумуляцию рассматриваемой системы доставки в целевых органах и тканях при учете особенностей биофизических процессов, происходящих в них. Силы, опосредующие распределение вводимых частиц, рассмотрены, в данной работе, как помощники, способствующие адресации, а аппарат математического моделирования позволяет подтвердить рациональность выбранных носителей.

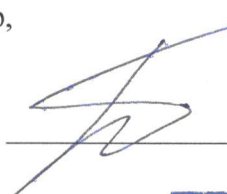
Диссертация выполнена на высоком научном уровне с применением современных методов исследований. Основные результаты диссертации опубликованы в научных статьях и материалах конференций.

Диссертация Гусяковой Ольги Игоревны «Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2.-Биофизика как удовлетворяющая критериям, установленным пп. 9-11, 13, 14 действующего «Положения о присуждении учёных степеней» для кандидатских диссертаций.

Заключение принято на совмещенном заседании Научного медицинского центра и кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г.Чернышевского» с приглашением специалистов по профилю диссертации. На заседании присутствовали 16 человек, из них в голосовании приняли участие 6 докторов наук и 6 кандидатов наук по профилю диссертации. Результаты голосования: «за» - 12 чел., «против» - нет, «воздержались» - нет, протокол №04/24 от 13 марта 2024 г.

Председатель заседания

доктор физико-математических наук, профессор,
заведующий кафедрой оптики и биофотоники,
руководитель научного медицинского центра
ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г.Чернышевского»




Туллин Валерий Викторович

Подпись		удостоверяю
Ученый секретарь		
Ученого совета СГУ		В.Г. Семенова
«16» сентября 2024 г.		