

**Отзыв**  
**официального оппонента Хомутова Г.Б.**  
**на диссертацию Гуслияковой Ольги Игоревны**  
**«Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при**  
**интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения»,**  
**представленную на соискание ученой степени**  
**Кандидата физико-математических наук**  
**По специальности 1.5.2. – Биофизика**

**Актуальность** диссертационной работы Гуслияковой Ольги Игоревны обусловлена её тематикой, связанной с разработкой и изучением физико-химических свойств системы доставки лекарственных средств на основе неорганических пористых частиц, способствующих эффективной аккумуляции модельных и терапевтических веществ в целевых тканях и органах организма.

Рациональное использование носителей лекарственных средств, основанное на понимании закономерностей их биораспределения при различных путях введения, является одной из стратегий в увеличении эффективности лекарственной терапии при снижении побочных негативных эффектов на организм и соответствует одному из приоритетных направлений научно-технологического развития Российской Федерации. Достижения в области молекулярной фармакологии и лучшее понимание физиологических и патофизиологических механизмов, протекающих как в отдельных органах, так и организме в целом, в настоящее время помогают целенаправленному воздействию на клетки, вовлеченные в инициацию и прогрессирование различных заболеваний. Это особенно актуально для большинства опасных для жизни заболеваний, требующих применения терапевтических агентов, имеющих многочисленные и зачастую тяжелые побочные эффекты, в связи с чем требуется точное избирательное нацеливание носителей лекарств на определенные ткани для минимизации побочного воздействия на другие ткани, органы и организм в целом. Современные системы доставки лекарств разрабатываются с использованием передовых технологий для ускорения системной доставки лекарств в конкретную целевую область, максимизируя терапевтическую эффективность и минимизируя нецелевое накопление лекарственных веществ в организме и соответствующие негативные побочные эффекты.

Активная работа огромного количества научных групп в области создания новых материалов биомедицинского назначения привела к созданию носителей лекарств всевозможной природы: неорганические нано- и микрочастицы, липидные, белковые и полимерные коллоидные структуры и т.д. Материал, из которого получают системы доставки лекарственных средств, способен сыграть ключевую роль во взаимодействии носителя с микроокружением после его введения в живую систему. Таким образом, для каждого класса носителей важно получить информацию о специфике их распределения в зависимости от метода введения в организм. В диссертационной работе О.И. Гуслияковой в качестве системы доставки лекарственных веществ был выбран карбонат кальция в

метастабильной фазе ватерита благодаря ряду преимуществ (высокая биосовместимость и загрузочная емкость, обусловленная пористой структурой ватерита, возможность пролонгированного высвобождения лекарств и растворения ватерита в средах со слабнокислым рН) и рассмотрены ранее не изученные для данного типа носителей особенности его распределения и накопления в организме после внутривенного, интратрахеального и интрафолликулярного введения.

**Научная новизна** проведенных исследований и полученных результатов заключается в следующем:

1. Впервые проведено сравнение накопления и удержания в легких после интратрахеального введения модельного флуоресцентного вещества, иммобилизованного в частицы ватерита трех размеров в субмикронном и микронном диапазоне. Было показано, что наименьший размер обеспечивает проникновение частиц ватерита в альвеолярную часть легких и наиболее длительное удержание модельного агента в целевом органе.
2. Показано влияние компонент бронхоальвеолярного лаважа на динамику трансформации частиц ватерита в кальцит *in vitro*. Наблюдаемое замедление процесса перехода в кальцитную фазу может способствовать пролонгированному высвобождению иммобилизованного вещества.
3. Продемонстрировано влияние олигонуклеотида, специфичного к ЕpСAM, расположенного на поверхности структур «ядро-оболочка» на основе субмикронных частиц ватерита, на эффективность удержания системы доставки лекарства в тканях целевого органа.
4. Продемонстрирован новый подход к адресной доставке носителей в злокачественные новообразования. На модели подкожно привитой аденокарциномы кишечника мыши показано, что снижение скорости кровотока и патологическое строение сосудов опухоли приводят к скапливанию и прилипанию к эндотелию вводимых внутривенно субмикронных частиц ватерита с последующей быстрой деградацией и высвобождением порфираза вследствие слабнокислой величины рН микроокружения, способствующей созданию локально высокой концентрации терапевтического агента и его диффузии в интерстиций опухоли.
5. На основе результатов численного моделирования временной зависимости концентрации терапевтического агента в интерстиции опухоли на фиксированном расстоянии от капилляра ( $r = 50$  мкм) для быстро и медленно высвобождающих носителей показано преимущество рассмотренных субмикронных частиц ватерита по сравнению с литературными данными для частиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот.
6. Продемонстрировано преимущество длительного высвобождения антимикотического препарата из ватеритных частиц в подавлении роста дрожжеподобных грибов *S. albicans* в сравнении с использованием свободного противогрибкового препарата.
7. Показана эффективная адресная доставка частиц ватерита, содержащих противогрибковый препарат, в волосяные фолликулы мыши с помощью терапевтического ультразвука с их последующей биодеградацией в течение 96 часов.

**Практическая значимость результатов**, полученных в диссертации, заключается в подтверждении преимуществ субмикронных пористых коллоидных частиц ватерита в качестве системы доставки лекарственных препаратов к различным органам и тканям организма. Аккумуляция таких носителей и создание локально высокой концентрации терапевтического вещества, иммобилизованного в них, могут быть полезны при разработке терапевтических тактик для лечения различных заболеваний. В случае, например, терапии заболеваний легких может быть использована стратегия иммобилизации лекарственного вещества в частицах ватерита в качестве матрицы-носителя, которая будет высвобождать препарат только после достижения дыхательных путей. Многие заболевания легких сопровождаются воспалительными процессами в альвеолярном пространстве. Возможность длительного высвобождения иммобилизованного вещества из частиц ватерита в альвеолах может повысить эффективность лечения. Дополнительная модификация поверхности частиц ватерита с оболочкой, содержащей фермент барназу, может быть использована для терапии раковых заболеваний и вирусных инфекций, включая коронавирусные инфекции у человека. Результаты исследования накопления частиц ватерита в подкожно привитой опухоли после внутривенного введения и последующего быстрого высвобождения порфиразина могут быть применены для улучшения тактик лечения онкологических заболеваний с использованием высокотоксичных препаратов, так как такие лекарственные формы способны обеспечить высокую локальную концентрацию иммобилизованного лекарства непосредственно в опухоли. Повышение эффективности терапии грибковых заболеваний кожи также возможно овеществить за счет инкапсуляции лекарств в ватеритные частицы и их адресной доставки в волосяные фолликулы.

**Степень обоснованности и достоверности** научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы Гусляковой Ольги Игоревны подтверждается использованием современного научно-исследовательского оборудования и программного обеспечения, применением стандартных методик измерений и расчета, сопоставлением и согласованностью с результатами независимых исследований других авторов. Полученные результаты и выводы соответствуют специальности 1.5.2. – Биофизика.

### **Основное содержание диссертации**

Диссертация О.И. Гусляковой состоит из введения, 5 глав, заключения, списка сокращений и списка цитируемой литературы, включающего 264 источника. Общий объем диссертации составляет 196 страниц, включая 63 рисунка и 4 таблицы.

Во введении достаточно полно и четко сформулированы актуальность, новизна, научная и практическая значимость работы, обозначена цель и задачи исследования.

Первая глава посвящена обзору научной литературы по следующим направлениям:

1. Методы синтеза частиц ватерита и модификации их поверхности с целью расширения функциональности коллоидных носителей, созданных на их основе.
2. Результаты *in vivo* применения частиц ватерита в терапии и диагностике. Описаны преимущества использования частиц ватерита при различных способах введения, включая пероральное, внутривенное, трансдермальное, внутрилегочное,

внутрибрюшинное, интраназальное, внутриопухолевое введение, а также имплантацию в составе тканеинженерных конструкций.

Во второй главе представлено детальное описание всех материалов и методов, использованных в ходе исследований и обработки данных. Описаны методики получения частиц ватерита различных размеров, иммобилизации модельных высокомолекулярных веществ и терапевтических агентов, а также проведены расчеты эффективности инкапсуляции лекарственных препаратов в них. Кроме того, описаны эксперименты, проведенные как на клетках, так и на животных, включая исследования *in vivo* и *ex vivo*.

В третьей главе представлены результаты исследования эффектов, наблюдаемых при интратрахеальном введении суспензии частиц ватерита разного диаметра. Наблюдение динамики изменения сигнала от модельного флуоресцентного вещества, предварительно иммобилизованного во водимые частицы, с помощью флуоресцентной томографии выявило, что частицы с размером  $0.6 \pm 0.2$  мкм обеспечивают наиболее длительное удержание модельного агента в целевом органе. Такой эффект был связан с возможностью проникновения частиц наименьшего размера в альвеолярное пространство, так как распределение объектов с аэродинамическим диаметром, характерным для исследуемых частиц, происходит преимущественно за счет диффузии, где при взаимодействии с компонентами выстилающего флюида происходит замедленная трансформация в кальцит и высвобождение иммобилизованного агента. Был продемонстрирован подход к повышению эффективности использования фермента, вызывающего гибель раковых клеток, за счет возможности многократной адсорбции на поверхность субмикронных частиц ватерита. Дополнительная модификация поверхности носителей олигонуклеотидом, специфичным к ЕрСАМ для адресной локализации носителя, позволила обеспечить содержание в целевом органе больше носителей (средняя поверхностная концентрация частиц составляла  $2.3 \times 10^3$  мм<sup>-2</sup>) по сравнению с немодифицированными носителями ( $1.3 \times 10^3$  мм<sup>-2</sup>).

В четвертой главе О. И. Гусякова анализировала влияние биофизических характеристик аномальной сосудистой сети подкожно привитой аденокарциномы, отличающейся низкой скоростью кровотока, на пассивное накопление контейнеров на основе субмикронных частиц ватерита, содержащих порфиразин, после внутривенной инъекции. Установлено, что исследуемые контейнеры прилипали к эндотелию капилляров и высвобождали лекарство, которое затем распространялось из капилляра в интерстициальное пространство опухоли. Быстрое высвобождение лекарства из контейнера оказалось ключевым преимуществом. Численное моделирование изменения концентрации вещества  $C(r,t)$  во времени на фиксированном расстоянии от капилляра ( $r = 50$  мкм) показало, что быстрое высвобождение порфиразина из ватеритных частиц обеспечивает значительно большее проникновение вещества в интерстициальное пространство опухоли по сравнению с медленно высвобождающимися частицами на основе PLGA.

В пятой главе продемонстрировано управление длительностью высвобождения иммобилизованного вещества из частиц ватерита за счет варьирования композиции и числа слоев полимеров, формируемых на поверхности. Максимальное увеличение времени высвобождения было достигнуто при нанесении наибольшего количества слоев,

включающих оболочку из двух бислоев полиаргинина и декстран-сульфата, а также терминальный слой гепарина. Кроме того, благодаря изменению состава полимеров была продемонстрирована возможность повышения эффективности захвата таких частиц клетками при очень низкой цитотоксичности. В *in vitro* тестах на дрожжеподобных грибах *Candida* было зафиксировано непрерывное фунгицидное и фунгистатическое действие частиц ватерита с иммобилизованным антимикотиком, что связано с высокой степенью загрузки и длительным высвобождением препарата из их структуры. В *in vivo* испытаниях было подтверждено, что лекарственная форма на основе пористых частиц ватерита способна проникать на всю глубину волосяного фолликула, обеспечивая тем самым доставку лекарственного препарата в глубокие слои дермы.

В Заключении автор суммирует итоги проведенного исследования, приводит выводы, обобщая результаты.

### **Замечания по диссертационной работе**

У меня нет вопросов и замечаний к диссертационной работе Гусяковой Ольги Игоревны с точки зрения постановки в ней важных и актуальных научных задач, а также подходов и методов, использованных для их решения. Полученные в работе интересные результаты и соответствующие выводы и положения, выносимые на защиту, мне понятны и также не вызывают вопросов и замечаний. Единственно, я мог бы сделать замечания, касающиеся жаргонизмов и англоязычных терминов, избыточно, на мой взгляд, встречающихся в тексте диссертации (например, комплаентность, формуляция, адресация, ...). Также в качестве недостатка и замечания к оформлению работы я бы отметил места в диссертации, где рисунок находится на одной странице, а подпись на другой (например, рис. 62 стр.165-166, рис. 63. стр. 198, 169). Это несколько затрудняет чтение работы.

Однако эти замечания не снижают высокой оценки представленной автором работы, её научную и практическую значимость, и не ставят под сомнение обоснованность и правильность в работе сделанных выводов.

Основные результаты работы опубликованы в 5 статьях, в том числе 1 работа в изданиях, рекомендованных ВАК, и 4 работы в зарубежных изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science. Автором проведен значительный объем экспериментальных и теоретических исследований, что свидетельствует о высоком качестве работы; достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Диссертация Гусяковой Ольги Игоревны «Биораспределение и деградация микронных и субмикронных частиц ватерита при интрафолликулярном, интратрахеальном и внутривенном способах введения» является законченным научным исследованием и в полной мере соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика, а автор диссертационной работы Гусякова Ольга Игоревна заслуживает присуждения ей степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика.

Официальный оппонент –

Профессор кафедры биофизики  
физического факультета  
федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Московский государственный  
университет имени  
М.В. Ломоносова», доцент,  
доктор физико-математических наук  
по специальности 03.01.04 – «Биофизика»  
Тел. +7(916)-538-70-04  
Эл. почта: [gbk@mail.ru](mailto:gbk@mail.ru)

Хомутов Геннадий Борисович

**Адрес места работы:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

119991, ГСП-1, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, МГУ имени М.В.Ломоносова, дом 1, строение 2, Физический Факультет  
<https://phys.msu.ru/>

И.О. декана физического факультета МГУ  
профессор

В.В. Белокуров

05.12.24

