

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН Н.Л. Шимановского на диссертацию И.В. Карьгиной «Изучение противоопухолевого потенциала и некоторых аспектов безопасности применения адресных систем доставки лекарственных средств в эксперименте» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность темы диссертации

В настоящее время злокачественные новообразования являются одной из основных причин смертности людей, представляя серьезную медико-социальную проблему во всем мире.

Химиотерапевтические методы лечения чрезвычайно широко используются в лечении онкопатологии, однако они имеют ряд сдерживающих факторов, ведущими среди которых являются высокая токсичность, трудность создания высоких действующих концентраций препарата в очаге поражения, формирование химио резистентности. Использование персонализированных подходов к лечению злокачественных новообразований, включающих назначение препаратов моноклональных антител, высокоспецифичных рецепторных антагонистов позволило повысить селективность противоопухолевого действия, но не решило проблему безопасности, продолжающую быть одним из наиболее значимых лимитирующих обстоятельств при выборе метода лечения.

В последние годы у исследователей возрос интерес к наночастицам, которые могут выступать в качестве средств доставки к опухолевому очагу и содержать несколько противоопухолевых препаратов с различными терапевтическими механизмами, что делает их идеальными кандидатами для терапии в онкологии.

В последние годы, с развитием нанотехнологий, было показано, что наночастицы селена (НЧС, SeNP) обладают меньшей токсичностью и более высокой биодоступностью по сравнению с органическими или

неорганическими формами соединений селена. Наночастицы селена могут проявлять самостоятельную противоопухолевую активность, и используются для лечения различных заболеваний, таких как сахарный диабет, воспалительные заболевания, фиброз печени и лекарственная токсичность.

В связи с этим диссертационная работа Карьгиной И.В., рассматривающая вопросы противоопухолевой эффективности наночастиц селена, допированных производным дигидроакридона в сравнении с существующими наноформами известных противоопухолевых лекарственных препаратов, является актуальной.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации И.В Карьгина, несомненна и подтверждается целым рядом обстоятельств. В работе для определения цитотоксичности допированных и недопированных наночастиц селена использовалась клеточная культура аденокарциномы легкого человека А549. Для определения противоопухолевой активности и метастазирования была применена валидированная сингенная модель аденокарциномы Льюиса, воспроизведенная на мышях линии С57В16. Определение накопления исследуемых веществ в биологических жидкостях и тканях, протеомный анализ проводился с использованием современного лабораторного оборудования. Обработка полученных результатов проводилась с использованием адекватных решаемым задачам методов вариационной статистики с применением параметрических и непараметрических критериев, а также лицензионного программного обеспечения.

### **Оценка достоверности и новизны диссертационного исследования**

Впервые проведено комплексное молекулярно-фармакологическое исследование противоопухолевого потенциала наночастиц селена,

полученных методом лазерной абляции, в зависимости от их загрузки противоопухолевым агентом ЛХТ-17-19, на клеточном, тканевом и организменном уровне при экспериментальном канцерогенезе.

В культуре клеток аденокарциномы легкого человека A549 было доказано, что наночастицы селена обладают собственной цитотоксической активностью в широком диапазоне концентраций с вычисленным показателем  $IC_{50}$  равным  $5,2 \times 10^{-6}$  М. Допирование наночастиц соединением дигидроакридона ЛХТ-17-19 дозозависимо повышало ингибиторный потенциал НЧС.

Автором определены показатели острой токсичности недопированных и допированных ЛХТ-17-19 наночастиц селена при внутрибрюшинном и внутривенном введении на белых лабораторных мышах. По показателям  $LD_{50}$  и  $LD_{100}$  при внутрибрюшинном и внутривенном введении соответственно данные вещества относятся к 3 классу – умеренно токсичных веществ по ГОСТ 12.01.007 – 76 и 4 классу токсичности и опасности по классификации ОЕСД.

На модели сингенной гетеротопической аденокарциномой легкого Льюиса курсовое внутрибрюшинное в течение 20 суток введение допированных ЛХТ-17-19 наночастиц селена в дозе 5 мг/кг и недопированного наноселена в дозе 10 мг/кг сопровождается при сравнении с контролем торможением роста первичного опухолевого узла и метастазирования опухоли, причем эффект допированного производным дигидроакридона ЛХТ-17-19 селенового контейнера превосходит по противоопухолевой эффективности незагруженный наноселен. Также установлена способность наночастиц селена сдерживать формирование паранеопластической кахексии лабораторных животных – носителей опухоли.

Курсовое введение наночастиц селена дозозависимо приводило к 2-3-кратному снижению уровней экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-17, ИЛ-6 и ИЛ-33, что также подтверждалось результатами протеомного анализа методом вестерн-блот. В обеих

исследуемых дозах НЧС снижали почти в 3 раза экспрессию и клеточное содержание одного из ключевых регуляторов воспаления – Casp-1 на фоне умеренного влияния на продукцию противовоспалительного ИЛ-10 в опухолевой ткани, при этом увеличивая экспрессию и содержание белка провоспалительных факторов  $TNF\alpha$  и  $TGF\beta$ .

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Результаты исследования позволяют рассматривать наночастицы селена, полученные методом лазерной абляции, в качестве самостоятельных нанолекарственных форм для проведения противоопухолевой терапии.

Полученные экспериментальные результаты показывают, что загрузка наночастиц селена веществом с противоопухолевым действием ЛХТ-17-19 снижает токсикологические свойства производного дигидроакридона и повышает его противобластомный эффект.

Наночастицы селена могут быть использованы в качестве фармакологических контейнеров для адресной доставки действующих лекарственных веществ, обладающих антибластомной активностью, к очагу патологического процесса.

При планировании доклинических и клинических испытаний для исследования системной и тканевой фармакокинетики лекарственных препаратов на основе наночастиц селена в качестве аналитического метода может быть использована атомно-абсорбционная спектрометрия.

### **Соответствие диссертации паспортам научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, а именно: п. 3. Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, геной инженерии и

других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*; п. 5. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток; п.7. Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности лекарственных средств. Изучение токсичности при однократном и многократном введении, включая оценку специфической токсичности и нежелательных побочных эффектов (мутагенность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на репродуктивную функцию, аллергизирующее действие, иммунотоксичность и канцерогенность).

### **Оценка структуры и содержания диссертации**

Диссертация оформлена по традиционному плану, состоит из введения и шести глав: глава 1 – литературный обзор; глава 2 – материалы и методы исследования; главы 3-5 с собственными результатами исследования; глава 6 – заключение с описанием итогов работы и перспектив дальнейшего развития темы работы; выводов; практических рекомендаций; списка условных обозначений и сокращений; списка литературы.

Во введении И.В. Карьгина формулирует актуальность, новизну и практическую значимость работы, цель и задачи исследования, ключевые положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена изложению современных взглядов об использовании нанотехнологий в противоопухолевой химиотерапии. Обзор изложен хорошим литературным языком, читается легко, интересно.

Во второй главе автор детально описывает дизайн исследования, дает физико-химические характеристики использованных наночастиц с описанием их синтеза, препаратов сравнения. Подробно характеризует использованные методы *in vitro* и *in vivo* исследований, методы статистической обработки результатов.

В главах 3-5 автор приводит основные результаты, полученные в ходе выполнения работы.

Третья глава посвящена описанию физико-химических свойств исследуемых наночастиц селена. Автором представлены результаты определения острой токсичности допированных и недопированных наночастиц селена при внутрибрюшинном и внутривенном введении. Показано, что допирование наночастиц селена производным диакридона повышает токсичность системы доставки лекарственного вещества.

В четвертой главе автор представляет результаты исследования противоопухолевой активности наночастиц селена, в том числе допированных ЛХТ-17-19, на моделях аденокарциномы легкого *in vitro* и *in vivo*. При инкубировании культуры аденокарциномы легкого человека A549 в присутствии наночастиц селена и при их внутрибрюшинном курсовом введении лабораторным мышам с экспериментальной сингенной гетеротопической аденокарциномой легкого Льюиса установлен самостоятельный противоопухолевый эффект наноселена, проявляющийся в подавлении роста клеток культуры, замедлении прогрессии роста опухолевого узла, предотвращении паранеопластической кахексии лабораторных животных и снижении метастазирования. Допирование наноселена соединением дигироакридона ЛХТ-17-19 повышает противоопухолевую активность последнего при его курсовом введении при сравнении с аналогичным режимом введения чистой фармацевтической субстанции вещества.

Пятая глава описывает влияние наночастиц селена на паранеопластическую воспалительную реакцию, стресс и клеточную гибель у мышей с сингенной аденокарциномой легкого и некоторые механизмы действия.

В разделе Заключение Ирина Викторовна Карьгина обобщает и систематизирует полученные результаты в сравнительном аспекте с привлечением литературного материала

По теме диссертационного исследования опубликовано 9 научных работ, из них 2 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России,

в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 статья в издании, рецензируемом международной базой Scopus, 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций, 4 – в иных изданиях.

**Замечания и вопросы:** имеющиеся в диссертационном исследовании некоторые технические недочеты и погрешности не снижают общего положительного впечатления о работе. Однако в ходе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. При проведении экспериментальных исследований на животных регистрировали ли Вы нежелательные острые и отдалённые эффекты допированных и недопированных наночастиц селена. Как долго наночастицы селена остаются в организме?

2. Каковы возможные механизмы избирательности доставки допированных и недопированных наночастиц селена в опухоль?

3. Почему в своей работе Вы допировали НЧС производным диакридона, а не использовали известный цитостатик?

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационное исследование Карьгиной Ирины Викторовны «Изучение противоопухолевого потенциала и некоторых аспектов безопасности применения адресных систем доставки лекарственных средств в эксперименте» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, представляет собой самостоятельно выполненную завершённую научно-квалификационную работу, содержащую решение актуальной задачи по разработке и изучению антибластомного потенциала наночастиц селена для создания системы доставки противоопухолевых лекарственных средств, имеющее значение для фармакологии, клинической фармакологии. Считаю, что, по актуальности, объёму выполненных исследований, новизне

полученных данных и их научно-практической ценности, диссертация И.В. Карьгиной соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)» утвержденным приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р (с изменениями, утвержденными приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом Сеченовского Университета №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Карьгина Ирина Викторовна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева Института биомедицины (МБФ) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский университет), член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

(3.3.6.)

Николай Львович Шимановский

06.02.2025г.

Подпись чл.-корр. РАН проф. Н.Л. Шимановского заверяю:

Ученый секретарь ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России (Пироговский университет),

к.м.н, доцент



О.М. Демина

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1;  
телефон: +7 (495) 434-03-29;  
e-mail: [shimannn@yandex.ru](mailto:shimannn@yandex.ru)