

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по организации научной и
проектно-инновационной деятельности
Южного федерального университета,
доктор экономических наук


Шевченко И.К.

« 30 »  2015 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» о диссертации Германа Сергея Викторовича “*In vitro* и *in vivo* визуализация гидрозолей магнетита, магнитолипосом и магнитных микрокапсул методом магнитно-резонансной томографии”, представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальностям 03.01.02 – биофизика.

Актуальность темы диссертационной работы. Диссертационная работа посвящена *in vitro* и *in vivo* визуализации липосом и нанокompозитных биodeградируемых микрокапсул, содержащих наночастицы магнетита, методом магнитно-резонансной томографии, и сравнению их контрастирующих свойств с гидрозолем магнетита, а также поиску физико-химических параметров, варьирование которых позволяет получать контрастирующие материалы для МРТ.

Одно из стремительно развивающихся направлений современной биомедицины связано с созданием эффективных систем адресной доставки биологически активных веществ, а также объектов совмещающих в себе диагностическую и терапевтическую функции. Наночастицы магнетита являются перспективным объектом тераностики, как в виде гидрозоля, так и в качестве функционального элемента более сложных структур. Являясь функциональным элементом таких объектов как полиэлектролитные микрокапсулы, наночастицы магнетита позволяют визуализировать их и оценить состояние их оболочек *in vivo* с помощью МРТ, проводить гипертермию переменным магнитным полем, а также использовать микрокапсулы для целевой доставки биологически активных

веществ при помощи приложенного внешнего магнитного поля. Однако получение наночастиц магнетита и микрокапсул их содержащих, изучение особенностей их визуализации методом МРТ, их биораспределения и токсичности при парентеральном введении являются актуальными задачами современной медицинской биофизики. С этой точки зрения тема диссертации является **актуальной**.

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы, включающего 387 источников, и приложения (благодарностей). Общий объем диссертации составляет 115 страниц, включая 27 рисунков и 6 таблиц.

Во *введении* описана актуальность темы исследования, раскрыта новизна работы и ее практическая значимость, а также сформулированы цель и задачи исследования.

В *первой главе* представлен аналитический обзор литературы по теме диссертации. В обзоре подробно рассмотрены методы синтеза и характеристики наночастиц магнетита, описаны подходы, используемые для стабилизации наночастиц и модификации их поверхности для биомедицинских приложений, а также основные свойства наночастиц магнетита. Также рассмотрены способы получения полиэлектролитных слоев и микрокапсул, а также магнитолипосом, в состав которых включены наночастицы магнетита, их свойства и основные области применения. Отдельно рассмотрены подходы к использованию наночастиц оксида железа в качестве контрастирующих агентов для магнитно-резонансной томографии, кратко приведены основные принципы увеличения контраста области интереса на МР изображениях с использованием контрастирующих веществ.

Во *второй главе* описывается методика получения наночастиц магнетита, способы модификации их поверхности и методы, применяемые для их характеристики. Также приводится описание методик получения магнитолипосом и микрокапсул. Представлены нанокompозитные покрытия, сформированные методом последовательной адсорбции полиэлектролитов, содержащие катионные и анионные наночастицы магнетита. Полученные композитные покрытия были использованы в качестве модели для оценки магнитных свойств полиэлектролитных структур, содержащих наночастицы магнетита, в частности магнитных полиэлектролитных микрокапсул.

Третья глава посвящена оценке воздействия наночастиц магнетита на живые системы на клеточном и тканевом уровнях, а также изучению МР контрастирования наночастиц магнетита и магнитолипосом. Полученные магнитолипосомы были использованы для *in vivo* контрастирования раковой опухоли путем интратуморального введения.

Четвертая глава посвящена изучению свойств полиэлектролитных микрокапсул, содержащих наночастицы магнетита. В качестве модели для изучения магнитных свойств данных микрокапсул и распределения наночастиц в их оболочке использовали планарные покрытия полиэлектролит/магнитные наночастицы, сформированные аналогичным образом на подложках монокристаллического кремния. Также в главе представлено *in vitro* исследование МР контрастирования суспензий микрокапсул в физиологическом растворе при их различных концентрациях. Показано изменение МР сигнала при ферментативном разрушении микрокапсул и продемонстрирована возможность оценки деградации полиэлектролитных микрокапсул, содержащих наночастицы магнетита, *in vitro* и *in vivo*, используя МРТ. Представлены результаты изучения биораспределения магнитных композитных биodeградируемых микрокапсул с целью оценки возможной токсичности, накопления и биораспределения исследуемых наноструктур при внутривенном введении у лабораторных животных без перевитых опухолей.

Научную новизну имеют следующие результаты:

Показана возможность использования цитрат-стабилизированных наночастиц магнетита и магнитолипосом для увеличения контрастирования области интереса на T1 взвешенных изображениях и определения концентрации наночастиц, используя значения интенсивности T1 и T2 взвешенных сигналов.

Продемонстрировано, что использование наночастиц магнетита, изменяющих как продольную релаксацию протонов, так и поперечную релаксацию, обеспечивает возможность повышения достоверности визуализации объектов и тканей *in vitro* и *in vivo* методом МРТ.

Показано, что магнитные микрокапсулы на основе биосовместимых полимеров, изначально не контрастирующие в МРТ, обнаруживают контрастирующие свойства после ферментативной деградации их оболочек вследствие высвобождения наночастиц магнетита.

Установлен характер биораспределения магнитных микрокапсул при внутривенном введении с течением времени.

Теоретическая и практическая значимость.

Создана экспериментальная установка для синтеза гидрозолей магнетита, позволяющая сохранить стерильные условия во время синтеза и промывки наночастиц, а также обеспечить проведение синтеза в инертной атмосфере, что минимизирует процесс окисления наночастиц.

Получены моноламеллярные магнитолипосомы с большой эффективностью загрузки гидрофильных наночастиц магнетита, которые могут быть использованы в качестве контрастирующих агентов для МРТ исследований. Показано, что капсулирование наночастиц в липосомы позволяет контролируемо повысить эффективность контрастирования области интереса на T2 взвешенных изображениях.

Получены биodeградируемые нанокompозитные микрокапсулы с высоким содержанием наночастиц магнетита. Предложен способ оценки деградации микрокапсул *in vivo* с помощью анализа МР изображений. Показана возможность управления контрастированием полиэлектролитных магнитных микрокапсул путем изменения в них концентрации наночастиц магнетита.

Достоверность полученных результатов обусловлена применением в экспериментах апробированных методик измерения, использованием стандартной измерительной аппаратуры и подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных в пределах установленных погрешностей, а также их соответствием результатам, полученным другими исследователями.

Рекомендации по использованию результатов. Предложенные в диссертационной работе методы, подходы и полученные результаты могут быть использованы образовательной и в научно-исследовательской деятельности в Московском, Нижегородском, Саратовском, Казанском, Томском государственных университетах, Южном Федеральном университете, Санкт-Петербургском и Томском политехнических университетах, Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Национальном медицинском исследовательском радиологическом центре Министерства здравоохранения РФ, а также других научных и отраслевых учреждениях, деятельность которых связана с использованием магнитных наночастиц для МРТ исследований.

К работе имеются следующие **замечания**:

1) В работе не представлено обоснование выбора способа синтеза магнитных частиц и нет данных об оптимизации параметров протокола синтеза.

2) С учетом того, что выявлено окисление синтезированных частиц со временем, не приведены данные об их временной стабильности или необходимых условиях для стабильности.

3) Кристаллическая фаза полученных частиц (магнетит или маггемит) нуждается в уточнении. Данных, приведенных на рисунке 2.5 не достаточно для решения этой задачи. Спектр РФА на рис. 2.5 скорее всего соответствует смеси нескольких фаз оксидов.

4) Магнитные свойства полученных наночастиц было бы уместно сравнить с существующими (коммерческими) аналогами для обоснования использования в качестве контрастных агентов для МРТ.

5) К сожалению, в работе не описана физическая модель поведения синтезируемых магнитных наночастиц во внешнем магнитном поле для точного анализа их отклика в МРТ экспериментах.

6) Следует прямо указать, что полученные на МРТ результаты связаны с использованием конкретного прибора и особенностей процедуры измерения. Данных для обобщения результатов на другие типы приборов не представлено, как и отсутствует в явном виде модель, позволяющая прокомментировать возможные причины наблюдаемых зависимостей.

7) Желательно представить больше конкретных данных по физическим свойствам наночастиц и их поведению во внешнем магнитном поле.

8) Было бы интересно рассмотреть хотя бы простые физические модели динамики исследуемых магнитных наночастиц в биологических тканях (жидкостях).

9) Слишком коротко (см., например, стр. 39) дано описание используемых физических методик исследования образцов (зачастую описание состоит из одного короткого предложения, в котором приводится только марка прибора). Это ставит под сомнение возможность точного воспроизведения результатов данного исследования в других лабораториях.

10) К сожалению, в диссертации достаточно много опечаток, широко используется жаргон (например, в подписях к рисункам 3.4 и 3.10).

11) Список литературы (использованных источников) весьма далек от требований соответствующего ГОСТа, в значительной части ссылок даже не приводится название статьи.

Общая оценка содержания диссертации.

Материалы, изложенные в диссертационной работе, полностью изложены автором в 5 статьях в рецензируемых ведущих отечественных и международных научных журналах, индексирующихся международной базой данных Scopus, и входящих в перечень ВАК Минобрнауки России научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций. Автореферат и публикации достаточно полно отражают содержание диссертации.

Диссертация **соответствует паспорту специальности 03.01.02 – биофизика.**

Диссертационная работа Германа С.В. “*In vitro u in vivo* визуализация гидрозолей магнетита, магнитолипосом и магнитных микрокапсул методом магнитно-резонансной томографии” является законченной научно-квалификационной работой, отвечающей требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 03.01.02 – биофизика, в соответствии «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842.

Диссертация Германа С.В. содержит научно-обоснованные решения по важной народно-хозяйственной задаче, имеющей существенное значение для биофизики и физической химии в области создания и исследования наноструктурированных магнитных частиц для биомедицинских применений.

Диссертантом решены следующие задачи: разработана методика получения наноструктурированных магнитных частиц для биомедицинских применений; исследована зависимость воздействия наночастиц магнетита на живые системы на клеточном и тканевом уровнях; проведен сравнительный анализ свойств полиэлектролитных микрокапсул, содержащих наночастицы магнетита.

Таким образом, по актуальности исследований, новизне полученных результатов, объему и достоверности экспериментальных данных, глубине научных положений и выводов, а также научной и практической

значимости, диссертация полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант Герман С.В. заслуживает присвоения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Отзыв составил директор Международного исследовательского центра «Интеллектуальные материалы» Южного федерального университета, доктор физико-математических наук, профессор Солдатов Александр Владимирович (тел. 8-863-2975128, e-mail: soldatov@sfedu.ru).

Диссертация заслушана и обсуждена на заседании Ученого Совета Международного исследовательского центра «Интеллектуальные материалы» Южного федерального университета (протокол № 8 от 30 ноября 2015 года).

Директор Международного
исследовательского центра
«Интеллектуальные материалы»
Южного федерального университета,
д.ф.-м.н., профессор

Солдатов А.В.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Личную подпись А. В. Солдатов

ЗАВЕРЯЮ:

Специалист по работе с персоналом
I категории Лилия Шова
«30» 11 20 15

