

ОТЗЫВ

официального оппонента Богатырева В.А. на диссертационную работу
Северюхиной Александры Николаевны
«Фотоиндуцированная цитотоксическая активность нетканых материалов на
основе хитозана, содержащих фотосенсибилизатор «Фотосенс»,
представленную на соискание ученой степени кандидата физико-
математических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика»

Исследования по получению материалов, содержащих биологически активные вещества, находятся на стыке биологии, химии, медицины и представляет собой одну из актуальных задач современной биофизики. Оппонируемая работа посвящена созданию материала на основе хитозана, в состав которого входит фотосенсибилизатор, и исследованию его фотоиндуцированной цитотоксической активности против животных клеток различных линий. Она находится в полном соответствии с паспортом специальности «Биофизика» с шифром 03.01.02 по отрасли физико-математические науки, поскольку в ней широко используются современные физические методы и математический аппарат.

Разрабатываемый материал может быть использован как в тканевой инженерии в качестве матрицы в скаффолд-технологии (скаффолда) для управляемого роста клеток, так и в антибактериальной терапии в качестве перевязочного средства. Важным преимуществом таких материалов является возможность создания многофункциональных лечебных средств за счёт их дополнительной модификации. Так, например, в работе продемонстрирована возможность создания биологических сенсоров на основе предложенных нетканых материалов. Результаты, проведенных исследований, представляют собой не только научный, но и практический интерес, а значительный объем экспериментов *in vitro* несомненно свидетельствует о биофизической направленности работы.

Диссертационная работа включает введение, пять глав, заключение и список используемых источников, содержащий 175 наименований. Материалы работы изложены на 105 страницах машинописного текста и включают 23 рисунка, 4 таблицы и 22 формулы.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, изложены цели и задачи, раскрыта научная новизна работы, научно-практическая значимость.

Первая глава «Литературный обзор» посвящена описанию технологии электроформования и рассмотрению влияния технологических параметров процесса на характеристики нетканых материалов. В ней рассмотрены вопросы применения нетканых материалов, полученных методом электроформования, в биологии и медицине, и возможность их использования в качестве биосенсоров – платформ гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР). Подробно рассмотрены особенности создания нетканых материалов на основе хитозана, на основании чего выбран исходный состав формовочного раствора. В данной главе описаны физико-химические механизмы и принципы фотодинамической терапии и применение фотодинамического эффекта как альтернативного подхода для преодоления антибиотикорезистентности микроорганизмов. Особое внимание уделено описанию нетканых материалов, содержащих в своем составе фотосенсибилизаторы. Рассмотрены подходы к описанию кинетики высвобождения биологически активных веществ из полимерных матриц, что позволяет выбрать адекватную модель для анализа высвобождения фотосенсибилизатора из хитозанового материала-носителя.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» приведено описание оборудования и технологии получения нетканых материалов, их модификации плазмонно-резонансными частицами. Подробно описаны методы исследования физико-химических свойств получаемых материалов и

экспериментов *in vitro*, приведены математические методы обработки данных и статистические оценки.

Третья глава «Характеризация нетканых материалов на основе хитозана» посвящена исследованию влияния включения фотосенсибилизатора в состав нетканых материалов на их морфологические и оптические характеристики. Наиболее значимым результатом является получение экспериментальных кривых высвобождения фотосенсибилизатора из волоконного хитозана и описание механизмов этого процесса на основании результатов математического моделирования. Описаны процедуры получения и характеристики хитозановых материалов с поверхностью, модифицированной плазмонно-резонансными частицами. Возможность их применения в качестве платформ ГКР показана на примере Родамина 6G и D-глюкозы.

Четвертая и пятая главы собственных исследований «Фотоиндуцированная антибактериальная активность нетканых материалов на основе хитозана, содержащих фотосенсибилизатор «Фотосенс»» и «Фотоиндуцированная цитотоксическая активность нетканых материалов на основе хитозана, содержащих фотосенсибилизатор «Фотосенс»» посвящены исследованиям *in vitro*. В них приведены результаты исследований по влиянию предложенных нетканых материалов на различные биологические объекты, включая нормальные (MC3T3-E1 остеобласты мыши) и раковые клетки (T-47D клетки рака молочной железы), а также один из распространенных болезнетворных бактериальных видов – *Staphylococcus aureus*. Результаты исследований подтверждают биосовместимость нетканых материалов на основе хитозана с различным содержанием «Фотосенса» в отсутствие светового воздействия и их фототоксическое действие. Интересным результатом является демонстрация возможности пространственного контроля над ростом клеток под действием светового излучения.

Заключение представляет собой краткую характеристику основных результатов работы, сформулированных в виде 7 выводов.

К наиболее значимым результатам диссертационной работы Северюхиной А.Н., определяющим ее новизну, научную и практическую значимость, следует отнести:

- демонстрацию возможности получения методом электроформования нетканых материалов из хитозана с различным содержанием фотосенсибилизатора;
- получение многофункциональных материалов на их основе за счет модификации плазмонно-резонансными частицами с помощью простой двухэтапной процедуры;
- получение экспериментальных кинетических кривых высвобождения фотосенсибилизатора и описание соответствующих механизмов на основании методов математического моделирования;
- демонстрацию пространственно локализованной фотоиндуцированной цитотоксической активности предложенного материала на примере различных биологических объектов.

Таким образом, предложенные материалы могут быть использованы в тканевой инженерии и антибактериальной терапии, что и определяет практическую значимость диссертационной работы. Практическая значимость работы подтверждается использованием результатов диссертации в грантах Правительства Российской Федерации, Российского научного фонда и др.

Достоверность полученных результатов подтверждается применением научного оборудования, которое верифицируется в соответствии с международными стандартами обеспечения единства измерений и единообразием средств измерений, воспроизводимостью экспериментальных данных, а также использованием математико-статистических методов обработки результатов.

Диссертационная работа А.Н. Северюхиной не лишена определенных недостатков:

1. Прежде всего, это касается формулировок заключений и выводов к отдельным главам диссертации. Так, раздел «Выводы к первой главе» занимает более 10 % общего объема главы и по сути не содержит кратких рубрицированных выводов. Общее заключение к работе, напротив, излишне лаконично.
2. Вывод 7 аргументирован только констатацией возможности применения ПРЧ-модифицированных матриц в качестве платформ ГКР на примере Родамина 6G и D-глюкозы без указания даже коэффициентов усиления в отличие от цитируемой собственной статьи в журнале «ACS Appl. Mater. Interfaces.». В то же время, остается неясным, почему в качестве модифицирующих ПРЧ выбраны золотые, а не серебряные наночастицы, или композиты золота и серебра?
3. Не совсем ясен выбор клеточных линий при проведении экспериментов на биосовместимость и фотоиндуцированную цитотоксичность. Хотелось бы узнать, какому механизму повышенной чувствительности опухолевых клеток к фотодинамическому воздействию автор отдает предпочтение в свете собственных экспериментальных данных.
4. Не указан метод измерения среднего размера и распределения по размерам золотых наночастиц, полученных на поверхности нетканых материалов.
5. В работе встречаются опечатки. Например, на странице 15 – неправильное согласование числительных, на странице 29 – пропущена «;» в подписи к рисунку 5, на странице 37 пропущена буква в слове «непосредсвенно», а на стр 61 предлог «на». В таблице 2 ($\text{м}^{-1}\text{см}^{-1}$) вместо ($\text{М}^{-1}\text{см}^{-1}$). На рисунке 18 отсутствуют цифры 3 и 4, имеющиеся в подписи.

Данные замечания не носят принципиального характера и не снижают как уровня проведенного исследования, так и значимости работы в целом.

Следует отметить, что результаты работы прошли достаточную апробацию. По теме диссертации автором опубликовано 9 печатных работ, в том числе 4 статьи в реферируемых научных изданиях, основные результаты работы представлены на международных и российских конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По выбранной теме, характеру исследования и полученным результатам диссертационная работа Северюхиной Александры Николаевны «Фотоиндуцированная цитотоксическая активность нетканых материалов на основе хитозана, содержащих фотосенсибилизатор «Фотосенс» полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
лаборатории нанобиотехнологии
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биохимии и физиологии
растений и микроорганизмов
Российской академии наук
(ИБФРМ РАН)

Богатырев Владимир Александрович

17 марта 2017 года
410049 г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13
E-mail: bogatyrev_v@ibppm.ru
Тел. 8(8452)970403



Подпись Богатырева В.А. заверяю
Ученый секретарь ИБФРМ РАН
к.б.н.

Пылаев Т.Е.