

УТВЕРЖДАЮ



Директор ФГБУН Институт
общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук
Академик РАН Щербаков И.А.

«02» октября 2017 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Гениной Элины Алексеевны
«Управление оптическими свойствами биологических тканей», представленную на
соискание ученой степени доктора физико-математических наук
по специальности 03.01.02 – биофизика

Актуальность темы.

Диссертационная работа Гениной Э.А. посвящена установлению механизмов управления рассеивающими и поглощающими свойствами биологических тканей с помощью экзогенных препаратов и разработке на их основе методов управления данными свойствами. Необходимость данных исследований вызвана современным развитием оптических методов для клинической функциональной визуализации, диагностики и терапии рака и других заболеваний. Основная проблема использования оптических методов диагностики и терапии связана с высоким рассеянием излучения видимого и ближнего ИК спектральных диапазонов в биологических тканях, что существенно ограничивает глубину проникновения света в ткань. Кроме того оптические неоднородности внутри биологических тканей обладают, как правило, невысоким оптическим контрастом при их визуализации. Актуальность темы исследований подтверждается экспоненциально увеличивающимся год от года количеством публикаций, посвященным развитию метода «оптического просветления» биотканей.

В настоящее время развитие флуоресцентной диагностики, фотодинамической и фототермической терапии, а также наиболее современного направления – тераностики, подразумевающей использование препаратов, позволяющих осуществлять как диагностическую визуализацию, так и терапевтическое воздействие, требует изучения взаимодействия соответствующих фотосенсибилизаторов с биологическими тканями,

направленного на повышение их поглотительной способности в определённом спектральном диапазоне.

Одной из важнейших проблем данной области науки является преодоление рогового слоя эпидермиса, являющегося естественным барьером организма, при местном нанесении оптических просветляющих агентов, фотосенсибилизаторов и частиц. Для решения данной проблемы предлагается целый ряд подходов, включающих использование химических усилителей (энхансеров) проницаемости эпидермиса, методов физических или мультимодальных воздействий.

Таким образом, управление поглощающими и рассеивающими свойствами биологических тканей с помощью биосовместимых иммерсионных жидкостей, введения красителей и наночастиц для повышения поглощения или оптического контраста, разработка методов внедрения данных препаратов в биоткани, несомненно, является актуальной проблемой, решение которой предлагается в диссертационной работе.

Новизна исследований, полученных результатов и выводов.

Автором раскрыты гидратационные/дегидратационные и иммерсионные механизмы оптического просветления ряда тканей *ex vivo* и *in vitro* под действием гиперосмотических иммерсионных агентов. Впервые установлено существование оптимального времени воздействия иммерсионной жидкости на биоткань, при котором достигается максимально возможная степень оптического просветления. Раскрыты механизмы воздействия гиперосмотических иммерсионных агентов при их введении различными способами (поверхностном и инъекционном) на оптические свойства ряда соединительных тканей *in vivo*. Впервые представлены результаты исследования взаимодействия патологически изменённой слизистой оболочки гайморовой пазухи человека *in vitro* и фотосенсибилизатора метиленового синего. Впервые представлены результаты изучения взаимодействия кожи *in vitro* и фотосенсибилизаторов метиленового синего и индоцианинового зелёного при использовании в качестве растворителей химических энхансеров проницаемости и многокомпонентных гиперосмотических растворов. Впервые представлены результаты исследования влияния этанола на проницаемость эпидермиса для фотосенсибилизаторов метиленового синего и индоцианинового зелёного. Впервые представлены результаты изучения изменения рассеивающих свойств кожи при микроабляции эпидермиса. В работе представлены результаты исследования повышения контраста изображений в оптической когерентной томографии печени при внутривенном введении золотых наночастиц. Предложены и разработаны методики фракционной оптотермической микроабляции (ФОТМА) для доставки лекарственных препаратов в кожу. Предложены и разработаны методики фракционной лазерной микроабляции (ФЛМА) для

доставки разномасштабных частиц в кожу. Предложена и разработана мультимодальная методика усиления транспорта гиперосмотических иммерсионных агентов и наночастиц в коже *in vivo*. Разработана методика фототерапии и фототермолиза воспалительных бактериальных заболеваний кожи (акне) с помощью их фотосенсибилизации индоцианиновым зелёным и облучения светом в спектральном диапазоне 803-809 нм. Разработана методика фототерапии воспалительных бактериальных заболеваний слизистых оболочек полости рта (гингивит) с помощью их фотосенсибилизации метиленовым синим и облучения светом с длиной волны 663 нм.

Анализ содержания диссертации.

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка использованных источников (986 наименований) и пяти приложений. Общий объём, включая 251 страницу основного текста с 110 рисунками и 14 таблицами, список использованных источников на 77 страницах и приложения на 60 страницах, составляет 388 страниц.

Во Введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована её цель и основные задачи, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены основные положения и результаты, выносимые на защиту, апробация работы и личный вклад автора, описаны структура и объём диссертации.

В Главе 1 приведен аналитический обзор литературы, посвящённый описанию поглощающих и рассеивающих характеристик биологических тканей и методам управления ими. В главе представлены также физико-химические основы иммерсионного метода управления рассеивающими свойствами биологических тканей, свойства многофункциональных агентов, использующихся в тераностике, результаты исследования токсичности агентов, использующихся для оптического иммерсионного просветления биотканей, и некоторых фотодинамических/фототермических агентов и частиц. Рассмотрены методы доставки агентов для оптического просветления и тераностики и улучшения проницаемости биологических тканей для этих агентов.

Глава 2 посвящена исследованию механизмов изменения рассеивающих свойств биоткани с помощью иммерсионного метода. Автором были проведены многочисленные исследования как на образцах различных соединительных тканей, так и на лабораторных животных. Полученные результаты позволили разделить процесс воздействия гиперосмотических растворов на биологические ткани на несколько этапов и проанализировать вклад каждого из них в итоговое оптическое просветление. Автору удалось выявить особенности оптического просветления кожи при различных способах введения иммерсионных жидкостей, продемонстрировать возможность оптического просветления черепной кости с помощью иммерсионного агента с высоким показателем преломления,

получить увеличение контраста визуализации структуры мышечной ткани и оптической глубины детектирования. Автором были получены и проанализированы значения эффективности оптического просветления с помощью иммерсионных жидкостей с различными физико-химическими параметрами для исследуемых типов биологической ткани: склеры, твёрдой мозговой оболочки, кожи, мышечной ткани, кости.

Глава 3 посвящена исследованию повышения контраста визуализации при оптической когерентной томографии сосудов и оптических неоднородностей в печени с помощью наночастиц за счёт увеличения рассеяния биоткани. Автором получены контрастные изображения сосудов и других структурных неоднородностей на оптической глубине до 800 мкм за счёт локализации в них наночастиц.

В Главе 4 представлены результаты исследования взаимодействия фотосенсибилизаторов метиленового синего (МС) со слизистой оболочкой и индоцианинового зелёного (ИЗ) с кожей в процессе их распространения при использовании водных растворов красителей, а также растворов ИЗ в этиловом спирте, пропиленгликоле и глицерине. Для количественной оценки изменения содержания красителя в биоткани использовался метод, позволяющий оценить скорость окрашивания биоткани в целом по данным измерения спектров обратного рассеяния в диапазоне поглощения исследуемых красителей. Автором показано, что в процессе проникновения исследуемых красителей в биоткань меняется соотношение высоты амплитуд полос поглощения, что связано с переходом молекул красителя из мономерной формы в димерную, а также образованиемагрегированной формы красителя. Получены значения эффективного коэффициента диффузии МС в патологически изменённой слизистой оболочке и ИЗ в дерме.

Глава 5 посвящена решению проблемы доставки фотосенсибилизаторов, иммерсионных агентов и наночастиц в кожу *in vivo* с помощью химических энхансеров и мультимодальных методов повышения проницаемости рогового слоя эпидермиса. Показано, что эпидермис практически непроницаем для водных растворов МС и ИЗ. При использовании в качестве усилителя диффузии красителей 40%-ного раствора этилового спирта, наблюдалось полное окрашивание образцов кожи, в результате чего удалось оценить их эффективный коэффициент диффузии в коже через роговой слой эпидермиса. Автором была определена эффективность оптического просветления дермы с помощью химического и физического усилителей проницаемости рогового слоя эпидермиса.

В Главе 6 представлены различные методики фракционной микроабляции кожи для улучшения доставки иммерсионных агентов, лекарственных препаратов и частиц. В работе исследовалась эффективность повышения проницаемости эпидермиса при его оптотермической микроабляции, уточнены механизмы оптического просветления при

создании в верхнем слое эпидермиса зон повреждения. Использовались частицы различного состава и широкого размерного диапазона для тестирования различных режимов лазерной микроабляции. В результате проведённых исследований разработаны методики и исследованы особенности применения фракционной оптотермической и лазерной микроабляций для улучшения внедрения иммерсионных агентов и разномасштабных частиц *invitro* и *invivo*.

В Заключении перечислены основные результаты и выводы работы.

В приложениях представлены описания методик фототерапии гайморита и гингивита с использованием раствора МС и лазерного излучения красного спектрального диапазона, фототерапии и фототермолизаакне с использованием раствора ИЗ и лазерного излучения инфракрасного спектрального диапазона, направленной доставки лекарственных препаратов в кожу с помощью ФОТМА эпидермиса и доставки биodeградируемых микроконтейнеров в глубокие слои кожи и создания там депо с помощью ФЛМА.

Представленные методики имеют важное прикладное значение и демонстрируют практическую направленность работы. Однако, полноценно применить разрабатываемые автором технологии просветления тканей не получилось, хотя в ряде случаев, таких как ФДТ акне или ФДТ пародонта это было бы уместно.

Рецензируемая работа характеризуется хорошим уровнем проводившихся экспериментальных исследований и квалифицированной интерпретацией полученных результатов.

Содержание автореферата и представленных публикаций по теме диссертационной работы полностью отражает основные положения и результаты диссертации. Заключение и выводы соответствуют цели и задачам проводившихся исследований и не вызывают сомнений. В целом диссертация соответствует указанной специальности. Результаты работы хорошо апробированы на всероссийских и международных конференциях, опубликованы в российских и международных научных журналах, входящих в перечень рекомендованных ВАК, международные реферативные базы данных и системы цитирования WoS и Scopus, и известны научной общественности.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В работе представлены новые фундаментальные знания о механизмах воздействия гиперосмотических иммерсионных жидкостей и фотосенсибилизаторов на соединительные ткани (склеру, твёрдую мозговую оболочку, дерму, костную ткань), мышечную ткань, эпидермис и слизистую оболочку. Получены новые фундаментальные данные о скорости проникновения метиленового синего и индоцианинового зелёного соответственно в слизистую оболочку и кожу. Автором предложен подход к решению проблемы увеличения

скорости проникновения фотосенсибилизаторов через роговой слой эпидермиса. Автором разработана методика внедрения микро- и наночастиц в глубокие слои кожи за счёт создания в дерме микроканалов с помощью фракционной абляции. Совокупность результатов, полученных в результате проведённых исследований, можно квалифицировать как решение крупной научной задачи – разработки методууправления оптическими параметрами биологических тканей за счёт временного изменения их рассеивающих и поглощающих свойств путём введения экзогенных препаратов, включающих биосовместимые иммерсионные жидкости, красители и частицы.

Полученные результаты способствовали развитию нового научного направления, состоящего в использовании оптического просветления биотканей для повышения эффективности многих современных оптических методов биомедицинских исследований: отражательной спектроскопии, оптической когерентной томографии, оптической эмиссионной томографии, нелинейной микроскопии, ультрамикроскопии и многих других.

Проведённые эксперименты и клинические испытания предложенных методик окрашивания биотканейиндоцианиновым зелёным и последующего фотовоздействия показали, что полученные результаты могут быть использованы в клинической практике лечения воспалительных заболеваний слизистых оболочек полостей носа и рта, кожного акне и других заболеваний.

Разработанная методика внедрения нано- и микрочастиц, а также микроконтейнеров, заполненных лекарственными препаратами, в кожу и создания в ней депо, может способствовать развитию нового направления управляемого терапевтического воздействия микродозами лекарственных препаратов при лечении заболеваний, требующих курсового воздействия.

О востребованности результатов исследований свидетельствуют высокая цитируемость работ автора диссертации в целом (более 1200 цитат на июнь 2017 г. для основных публикаций), а также цитирование в ведущих научных журналах и монографиях.

Заключение.

Актуальность темы исследований и новизна полученных результатов, высокий научный уровень работы, её теоретическая и практическая значимость позволяет сделать заключение о том, чтодиссертационная работа Гениной Элины Алексеевны «Управление оптическими свойствами биологических тканей», представленная на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика, отвечает всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а её

автор заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Отзыв обсуждён и единогласно утверждён на семинаре Института общей физики им. А.М.Прохорова РАН № 2039 от 18 сентября 2017 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук (ИОФ РАН)

119991, Москва, Вавилова д. 38

Телефон: +7 (499) 135-4148, факс: +7 (499) 135-0270. E-mail: postmaster@kapella.gpi.ru

Отзыв составил доктор физ.-мат. наук, профессор

Виктор Борисович Лощёнов

119991, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 38, корп. 5

Тел. +7(499)1351489

e-mail: loschenov@mail.ru

Подпись В.Б. Лощёнова заверяю

Ученый секретарь ИОФ РАН

доктор физ.-мат. наук



Степан Николаевич Андреев