

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Фарраховой Дины Салимовны «Лазерно-спектроскопические исследования свойств фотосенсибилизатора индоцианина зеленого в молекулярном и коллоидном растворах», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19 – «лазерная физика»

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Фарраховой Дины Салимовны посвящена исследованию оптических спектральных свойств агрегатных наночастиц на основе индоцианина зеленого и оценке возможности их применения для диагностики злокачественных новообразований головы и шеи методом лазерно-индуцированной флуоресцентной спектроскопии. Актуальность выполненного исследования не вызывает сомнения, поскольку отвечает ряду направлений «Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 - 2030 годы)», в частности, направлениям «Развитие методов фотоники для применения в технике и медицине», «Фотонные технологии в медицине».

Несмотря на то, что метод фотодинамической терапии в онкологии имеет более чем полувековую историю, задачи поиска наиболее эффективных и удобных в применении фотосенсибилизаторов, отвечающих требованиям безопасности, специфичности, с оптимальными фармакокинетическими и спектральными свойствами не утратили своей значимости. Актуальность исследований в этой области определяется тем, что разработка и использование новых фотосенсибилизаторов в наноразмерной форме с оптимальными для физиологического окна прозрачности биологической ткани спектральными свойствами позволяют визуализировать глубокозалегающие опухоли и значительно продлить длительность диагностического и терапевтического периодов за счет изменения фармакокинетических свойств по сравнению с молекулярными фотосенсибилизаторами. Помимо изучения оптических спектральных

свойств J-агрегатов индоцианина зеленого, в работе уделяется большое внимание изучению их взаимодействия в различном биологическом окружении, а также изменениям оптических свойств в различных биологических моделях, в том числе при диагностике опухолей человека.

Таким образом, выбранная соискателем тема исследования актуальна и перспективна для последующего ее развития и внедрения результатов работы в практику.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Основные направления исследования диссертационной работы представляют изучение лазерно-флуоресцентных свойств J- и H-агрегатов индоцианина зеленого на различных биологических моделях *in vitro* и *in vivo*. Научная новизна заключается в разработанном методе детекции опухолевой ткани и ее границ по накоплению H-агрегатов коллоидного раствора индоцианина зеленого, причем установлено, что циркуляция фотосенсибилизатора увеличивается с 30 минут до 48 часов. Различные кинетики затухания флуоресценции молекулярного и коллоидного растворов позволят идентифицировать раковые и иммуннокомпетентные клетки в опухолевом окружении. Автором удачно применена оптимизированная биологическая модель трехмерных опухолевых сфероидов, воспроизводящая опухолевую ткань *in vivo*, что впервые позволило исследовать распределение и накопление фотосенсибилизаторов в различных слоях опухоли. Кроме того, автором впервые продемонстрирована эффективность детекции опухолевых клеток с использованием наноразмерных частиц, по сравнению с молекулярной формой индоцианина зеленого. Помимо этого показано, что коллоидный раствор индоцианина зеленого, который преимущественно состоит из J-агрегатов, проявляет стабильность в биологическом окружении и селективность накопления в опухолевых клетках с увеличенной циркуляцией в организме. На основе полученных результатов впервые

предложена альтернативная модель взаимодействия мономеров индоцианина зеленого, входящих в J-агрегат. К новым результатам следует отнести и данные об апробации разработанной флуоресцентной видеосистемы, полученные при оценке эффективности фотодинамической терапии у пациентов с различными злокачественными новообразованиями печени, головы и шеи.

В целом, научная новизна полученных результатов не вызывает сомнений. Все результаты, изложенные в работе, соответствуют мировому уровню исследований в этой области.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений

Достоверность экспериментально полученных результатов очевидна, поскольку они хорошо согласуются с теоретическими представлениями и подкреплены данными, полученными разными методами. В работе присутствует полное и подробное описание методов исследования, осуществление которых позволило автору получить эти результаты. В частности, представлена оптимизированная технология приготовления коллоидного раствора наночастиц индоцианина зеленого с теоретическим описанием зависимости коэффициента поглощения от размера и концентрации наночастиц. Описана методика приготовления биологических трехмерных моделей опухолевых конгломератов, воспроизводящих ключевые особенности развития опухолевой ткани *in vivo*. Продемонстрировано подробное описание разработанной трехканальной видеосистемы для интраоперационной диагностики опухоли и оценки границ опухолевого роста с использованием фотосенсибилизаторов в дальней красной и ближней инфракрасной областях. Автором выполнен анализ соответствия данных, полученных интраоперационно с помощью разработанной видеосистемы, результатам, получаемым с использованием

сертифицированного спектроскопического оборудования, широко применяемого в клинической практике.

Положения, выносимые на защиту, выводы согласуются с материалами работы, следуют из полученных результатов, являются убедительными и хорошо согласующимися с современными представлениями по проблематике исследования.

Основные результаты диссертации опубликованы в виде 25 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, входящих в перечень ВАК. Исследования неоднократно докладывались на всероссийских и международных конференциях и положительно оценены научной общественностью. Таким образом, обоснованность и достоверность всех сделанных в диссертации Фарраховой Д.С. выводов, сформулированных положений и заключения не вызывают сомнений.

Значимость результатов, полученных в диссертации, для науки и практики

Теоретическая значимость выполненного диссертационного исследования обусловлена разработкой научно-обоснованного подхода к регистрации присутствия в ткани опухолевых клеток с использованием новых типов фотосенсибилизаторов, комплексной оценкой оптических свойств J- и H-агрегатов индоцианина зеленого с применением современных технологических решений и различных биологических моделей *in vitro* и *in vivo*.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в реализации нового подхода к интраоперационной флуоресцентной диагностике с использованием трехканальной видеосистемы для регистрации флуоресцентного сигнала в дальней красной и ближней инфракрасной областях, которая позволяет определять границы опухолевой ткани для последующего лечения и оценивать пути ее метастазирования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Основные результаты, полученные Фарраховой Д.С., могут быть рекомендованы к внедрению при выполнении исследований и разработок, подготовке специалистов в сфере лазерной физики, биофотоники, биофизики, экспериментальной онкологии, фотодинамической терапии. Считаю, что работа Фарраховой Д.С. вносит существенный вклад в развитие этих направлений и создает научно-технический задел для реализации новых междисциплинарных проектов с высокой степенью теоретической и практической значимости.

Общая оценка содержания диссертации: диссертационная работа Фарраховой Д.С. состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы. Общий объем работы составляет 155 страниц, включая 77 рисунков, 3 таблицы и библиографию из 90 наименований.

В введении представлена актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и основные задачи исследований, приведены научные положения, выносимые на защиту, подчеркнута научная новизна работы, ее научная и практическая значимость, представлен личный вклад автора в решение поставленных задач.

Первая глава носит обзорный характер и посвящена информации о современном состоянии исследований по тематике диссертационной работы. Отдельно рассмотрены физические свойства взаимодействия мономеров индоцианина зеленого, входящих в J-агрегат, основанные на экситонной теории Френкеля. Представлены ключевые аспекты взаимодействия лазерного излучения с биологической тканью, основы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии опухолей.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов исследования, характеристике примененных устройств, объяснению

принципов работы оборудования. Эта глава имеет достаточную степень детализации и дает полное представление о дизайне исследования, выборе автором набора исследовательских подходов, позволивших ему достичь цели и решить задачи работы.

В третьей главе представлены результаты исследования свойств коллоидного раствора индоцианина зеленого, получения спектров поглощения и флуоресценции, теоретические расчеты и экспериментальные данные по зависимости коэффициента поглощения от размера J-агрегатов и их концентрации, полученные методами динамического рассеяния света. Следует отметить высокий методологический уровень работы и то, что комплексный подход к решению заявленных задач обеспечил получение новых интересных результатов с высоким потенциалом к последующему внедрению.

Четвертая глава диссертационной работы демонстрирует изучение взаимодействия и стабильность наноразмерных структур индоцианина зеленого на различных биологических моделях, таких как монослойные клеточные культуры, трехмерные опухолевые сфероиды и лабораторные животные.

Пятая глава посвящена анализу данных в сопоставлении с результатами, получаемыми с применением спектроскопического оборудования, используемого в современной клинической практике.

В заключении подчеркнуты основные научные и научно-технические результаты работы.

По результатам изучения диссертации Фарраховой Д.С. могут быть сформулированы следующие замечания:

- 1) Индикатрису рассеяния автор получал на импровизированном самодельном «гониометре» с очень маленькой базой (не более 100 мм), применяя не параллельный пучок света, а расходящийся из световода, а вместо оптической кюветы была использована лабораторная пробирка.

Указанные условия значительно снижают точность получения индикатрисы и затрудняют дальнейшую интерпретацию данных.

2) В видеосистеме в качестве источника белого излучения выступает RGB светодиод, который не дает сплошной спектр, и, соответственно, им нельзя обеспечить правильную цветопередачу из-за провалов в спектре.

3) В экспериментах по регистрации «резонансной флуоресценции» авторы использовали фемтосекундный перестраиваемый лазер для возбуждения, а регистрацию флуоресценции производили в непрерывном режиме, тем самым значительно осложнив условия по дискриминации рассеянного излучения накачки при близких длинах волн возбуждения и флуоресценции.

4) В работе на с. 142 автор утверждает: «Следовательно, интраоперационная флуоресцентная диагностика, позволяющая определить точную локализацию и границы опухоли, повышает эффективность ФДТ, благоприятно влияет на медиану выживания больных раком различных локализаций», однако не приводит клинических данных, подтверждающих указанный вывод.

Однако все указанные выше замечания не носят принципиального характера и не влияют на общее, сугубо положительное впечатление от работы. Убежден в том, что диссертационная работа Фарраховой Д.С. является актуальным и высоко значимым научным исследованием, полученные результаты являются новыми, обоснованными и достоверными. Диссертант демонстрирует высокую квалификацию как на этапе проведения исследований, так и на этапе представления полученных результатов, поэтому отмеченные недостатки не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, полностью отражает ее структуру и дает представление об актуальности и методологии работы, основных научных результатах и их новизне. Замечаний по автореферату нет.

В качестве научной дискуссии предлагаю соискателю обсудить использование в работе термина «резонансная флуоресценция» для описания флуоресценции в молекулярных системах, в которых существенна ширина электронных состояний по сравнению с атомарными системами, где этот термин традиционно используется.


Заключение

Диссертация Фарраховой Д.С. полностью соответствует паспорту научной специальности «лазерная физика», выполнена на высоком научном уровне и подтверждает высокую квалификацию автора, интерес к решению актуальных задач в области лазерной физики и способность получать значимые научные результаты.

Диссертация Фарраховой Дины Салимовны «Лазерно-спектроскопические исследования свойств фотосенсибилизатора индоцианина зеленого в молекулярном и коллоидном растворах», представленная на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной задачи лазерной физики – оценке спектральных свойств новых фотосенсибилизаторов и возможностей их применения в лазер-индуцированной флуоресцентной спектроскопии. По новизне, научной и практической ценности полученных результатов, перспективам их практического применения диссертация полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168 с изменениями от 26 мая 2020 г.), предъявляемым к диссертациям на


соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Фаррахова Дина Салимовна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19 – «лазерная физика».

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой медицинской
и биологической физики Красноярского
государственного медицинского университета имени
проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России,
д.ф.-м.н., доцент  Салмин Владимир Валерьевич

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Красноярский государственный
медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого"
Министерства здравоохранения Российской Федерации
660022, Красноярский край, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, д. 1
тел.: +7-913-832-68-12
e-mail: vsalmin@gmail.com

Подпись доктора физико-математических наук, доцента Салмина В.В.
удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Красноярский государственный
медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава
России,
доктор медицинских наук  Медведева Надежда Николаевна

« 23 » мая 2022 г.