

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе

Национального исследовательского
университета «МИЭТ»,

доктор технических наук, профессор



С.А.Гаврилов

«12» сентября 2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Макарова Владимира Игоревича «Спектральные свойства кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия при лазерном возбуждении», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 – лазерная физика

1. Актуальность темы исследований

Диссертационная работа В.И. Макарова посвящена исследованию спектрально-оптических свойств кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия, в которых наблюдается возникновение флуоресценции и фототоксичности при контакте с опухолевыми или иммунными клетками. В работе представлены экспериментальные результаты по измерению спектров флуоресценции при непрерывном и импульсном лазерном возбуждении, определению энергетического выхода флуоресценции, а также определению

времени жизни флуоресценции при взаимодействии с иммунными и опухолевыми клетками.

Флуоресцентная диагностика и неинвазивная терапия онкологических и воспалительных заболеваний при возбуждении светом фоточувствительных соединений (фотосенсибилизаторов) относятся к одному из активно развивающихся направлений современной медицины. Применение фотосенсибилизаторов в форме наночастиц позволяет минимизировать их накопление в коже и здоровых органах, сохранив при этом высокую фототерапевтическую эффективность. В последнее время большое внимание уделяется наночастицам, состоящим из органических молекул: производным хлоринов, порфиринов и фталоцианинов различных металлов, в том числе кристаллическим наночастицам фталоцианина алюминия, которые при контакте с опухолевыми или иммунными клетками приобретают способность флуоресцировать и становятся фототоксичными. Объяснение природы возникновения этих эффектов является важной фундаментальной задачей.

Таким образом, диссертационная работа В.И. Макарова посвящена решению актуальной научной задачи, направленной на создание новых эффективных нанофотосенсибилизаторов, обладающих диагностическими и терапевтическими свойствами.

2. Новизна и научная значимость исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций

Основной задачей диссертационной работы являлось исследование процессов и выявление механизмов, приводящих к изменению флуоресцентных свойств кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия, а также разработка лазерно-спектроскопического комплекса для измерения и анализа динамики изменения состояния наночастиц фталоцианина алюминия в биологических средах.

В работе экспериментально обнаружено возникновение флуоресценции не флуоресцирующих в воде кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия.

2. Исследованы спектрально-флуоресцентные свойства кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия, а также кинетика затухания флуоресценции.

Определен квантовый выход синглетного кислорода при лазерном возбуждении кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия.

Установлена природа изменения флуоресцентных свойств кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия при взаимодействии с микроокружением. Определены динамические зависимости изменения интенсивности, длины волны и времени жизни флуоресценции (в пико- и наносекундном диапазонах) кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия. Разработан исследовательский комплекс, базирующийся на лазерно-спектроскопических приборах и волоконно-оптических инструментах, для экспериментальной апробации НЧ-АІРс для фототераностики воспалительных заболеваний на биологических фантомах, на клеточных культурах и на экспериментальных животных.

Экспериментально исследована возможность использования НЧ для диагностики и терапии патологий организма, оптимизированы концентрации кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия, дозы и мощности возбуждающего излучения, диапазон изменения спектрально-флуоресцентных параметров.

3. Практическая значимость полученных автором результатов

Диссертантом были разработаны и экспериментально апробированы методика и лазерно-спектроскопический аппаратный комплекс с временным разрешением в пико- и наносекундном диапазонах для оценки взаимодействия лазерного излучения, наночастиц и микроокружения. Исследована динамика изменения интенсивности, длины волны и времени жизни флуоресценции в зависимости от типа микроокружения методами времяразрешенной лазерной спектроскопии на макроуровне на лабораторных животных и биологических фантомах и микроуровне на криогенных срезах и клеточных линиях. Разработана модель, описывающая уширение по времени спектрального сигнала при распространении лазерного короткого импульса и флуоресценции, индуцированной этим импульсом в сильно рассеивающих средах, что позволяет экстраполировать методику на биологические ткани с различными оптическими

характеристиками. Экспериментально исследованы возможности использования наночастиц фталоцианина алюминия и разработанной аппаратуры для диагностики патологических состояний воспалительных заболеваний, таких как артроз коленного сустава и аутотрансплантация кожи.

Установленные оптимальные концентрации допирующих примесей могут быть использованы для синтеза эффективных люминофоров. Результаты исследования флуоресцентных свойств исследуемых наночастиц в макрофагах могут быть использованы для разделения макрофагов по их функциональному типу в организме, что позволит контролировать процесс терапии.

4. Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций диссертации

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций диссертации базируются на использовании диссертантом общепринятых физических и математических методов и соответствии литературным данным. Достоверность представленных в работе экспериментальных результатов обеспечена применением современного высокоточного оборудования.

5. Публикации и апробация работы

По результатам работы опубликовано 14 статей в журналах, в том числе 13 в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, 24 тезиса докладов на международных и российских научно-технических конференциях

6. Оценка содержания работы

Диссертационная работа представлена на 136 страницах машинописного текста и содержит 90 рисунков. Список литературы включает 143 ссылки. Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка основных публикаций по теме диссертации и списка цитируемых источников.

Во введении обоснована актуальность работы, сформулирована цель работы, излагаются задачи исследования, перечислены основные положения, выносимые на

защиту, отмечена научная новизна, достоверность и научно-практическая значимость полученных результатов, описана апробация результатов исследования.

В первой главе приведён обзор литературы, в котором рассмотрены основные оптические свойства фталоцианинов в молекулярной и наноформах, а также различия в их структурных и спектрально-люминесцентных свойствах, описано современное состояние исследований по данной теме. Рассмотрены основные проблемы применения молекулярных форм фталоцианинов в клинической практике, описаны современное состояние исследований и перспективы практического применения нанокристаллических фталоцианинов. Сделан вывод о том, что использование фталоцианинов в качестве фотосенсибилизаторов для флуоресцентных методов диагностики и фотодинамической терапии в медицине является актуальным и перспективным. Новым направлением стало использование различных наноформ фталоцианинов, в том числе нанокристаллических агрегатов фталоцианинов. Оптимизация и изучение фотофизических параметров наноконплексов фталоцианинов может значительно повысить их эффективность и открыть новые возможности для их применения. Взаимодействие наночастиц фталоцианинов с окружением и лазерным излучением – это сложный многофакторный процесс, для исследования которого необходимо использовать как экспериментальные, так и теоретические методы.

Вторая глава посвящена методикам эксперимента, инструментарию и описанию используемых образцов. Описан метод приготовления коллоидных растворов наночастиц фталоцианина алюминия с характеристикой их по размерам, кристаллической структуре, спектрам поглощения, рассеяния, фотолуминесценции. Приведена оригинальная методика измерения квантового выхода флуоресценции и эффективности генерации синглетного кислорода при селективном лазерном возбуждении. Описана методика и аппаратура для исследования динамики взаимодействия наночастиц с иммунными и опухолевыми клетками при пикосекундном селективном лазерном возбуждении с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, волоконно-

оптического спектрометра и полупроводниковых лазеров. Представлена схема и принцип действия разработанного приборного комплекса для неинвазивной спектроскопической оценки состояния кожного покрова с регистрацией и обработкой информации в цифровом виде. Описаны методы численного моделирования изменения временных характеристик пикосекундного лазерного импульса и флуоресценции при распространении света в ткани.

В третьей главе описываются результаты исследования изменения спектрально-люминесцентных наночастиц фталоцианина алюминия при взаимодействии их с различным микроокружением. Получены характерные спектры поглощения и флуоресценции НЧ-АІРс. Показано, что флуоресценция наночастиц фталоцианина алюминия чувствительна к показателю рН, а НЧ-АІРс имеют, как минимум, два возможных варианта состояния, каждое из которых различается характером взаимодействия молекул на поверхности наночастицы с окружением. Рассчитана фотодинамическая эффективность Фотосенса в культурах клеток HeLa и ТНР-1 и показано, что она не снижается по сравнению с моделью «эритроциты + ФС». В случае с НЧ-АІРс фотодинамическая эффективность сопоставима с Фотосенсом в культурах клеток HeLa. Фотодинамическая эффективность НЧ-АІРс в культурах клеток ТНР-1 на начальном этапе облучения превышает эффективность Фотосенса. Рассчитан квантовый выход флуоресценции НЧ-АІРс при взаимодействии с клетками. Показано, что внутри клеток НЧ-АІРс сохраняют кристаллическую структуру. Предложена модель перехода НЧ-АІРс в «активное» флуоресцирующее состояние.

Изучена динамика изменения времени жизни флуоресценции в модельных системах и культурах раковых клеток. Предложен метод измерения квантового выхода флуоресценции и эффективности генерации синглетного кислорода наночастицами в модельных системах и различных клеточных культурах; оценка фазового состояния и динамика внутриклеточного накопления/выведения наночастиц фталоцианина алюминия; результаты сравнения теоретических расчетов и экспериментальных значений изменения временных характеристик лазерного импульса и флуоресценции при распространении света в ткани.

Показана корреляция рассчитанных методом Монте-Карло значений уширения спектра по времени с регистрируемыми экспериментальными данными.

Четвёртая глава посвящена исследованию возможности использования наночастиц фталоцианина алюминия в качестве нового фотосенсибилизатора для клинических применений.

Показана возможность применения наночастиц фталоцианина алюминия для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии заболеваний крупных суставов, а также для флуоресцентного контроля за фотодинамической терапией артрозов крупных суставов *in vivo* на экспериментальных животных.

Разработан новый спектроскопический метод оценки неоангиогенеза при приживлении кожных трансплантатов с применением НЧ-АІРс. Оптимизированы концентрации НЧ-АІРс, дозы и мощности облучения, диапазон изменения контролируемых спектрально-флуоресцентных параметров отвечающих за эффективность применения фотодинамической терапии или других альтернативных методов лечения. Предложены спектрально-люминесцентные методы оценки и мониторинга параметров, отвечающих за степень приживления трансплантируемых тканей.

Доказана возможность применения ФДТ для профилактики и лечения атеросклероза — выявлен регресс атеросклеротических поражений облучённых участков сосуда по сравнению с необлучёнными (контрольными) участками. Показана эффективность ФДТ для предотвращения развития рестеноза после установки стента. Описан новый спектроскопический метод оценки неоангиогенеза при приживлении кожных трансплантатов с применением наночастиц фталоцианина спектрально чувствительных к воспалительным реакциям.

В заключении сформулированы основные результаты работы.

При обсуждении диссертационной работы были сформулированы следующие замечания.

1. Не согласованы пространственные конфигурации кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия НЧ-АІРс на рис.14,15 и 68.

2. Рис.13б: непонятно, что автор понимает под экстинкцией: показатель экстинкции или десятичный показатель экстинкции. На графике нет единиц измерения экстинкции. В подписи к рисунку указано, что кривые различаются по типу линии, в то же время на самом рисунке кривые различаются не типом линии, а цветом.

3. На стр.48 утверждается: "НЧ-АІРС имеют плоскую слоистую форму, что подтверждается исследованием НЧ-АІРС на просвечивающем и сканирующем электронных микроскопах (Рисунок 23)". Однако из рис.23 не следует слоистость НЧ-АІРС.

4. Стр.73. Исходя из формулы (31), вместо "составила величину близкую к 1 ($\chi^2=1$)" следует писать "составила величину близкую к 0 ($\chi^2=0$)". Вместо "Для идеально аппроксимированной кривой $\chi^2=1$ " следует писать "Для идеально аппроксимированной кривой $\chi^2=0$ ". Вследствие этого замечания выглядит подозрительной близость не к нулю, а к единице $\chi^2=1,002$ и $\chi^2=0,998$ на рис.42 и 44 соответственно.

5. Недостаточно подробно описан способ использования экспериментальной установки на рис.53. При этом даётся ссылка на статью [117], в которой есть такое описание, что недостаточно для диссертации.

6. Во второй главе нет заключения.

7. Ошибки в оформлении.

Отсутствует шкала цветов на рис. 42, 43, 44, 51, 52, 69.

Присутствуют надписи одновременно на русском и английском языках на рис. 7, 59.

Стр.30: Наименование таблицы должно находиться над таблицей, а не под таблицей.

Стр.73: Написано A1, A2 вместо A_1 , A_2 .

8. Грамматические ошибки: "представлен на Рисунок 3.", "Кристаллическая наночастицы ", "изображена Рисунок 16", "Рисунок 29-31",

"подкожно жировая клетчатка", "аппроксимации", " Рассчитанные методом МК распределение пути фотонов"

Несмотря на сделанные замечания, диссертация В.И. Макарова заслуживает положительной оценки.

Заключение

Тема и содержание диссертационной работы соответствуют специальности 01.04.21 – лазерная физика. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, написана достаточно ясно и правильно оформлена.

Диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании проведённых автором исследований изложены результаты решения научной проблемы по исследованию спектрально-оптических свойств кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия, имеющей важное значение для разработки новых методов медицинской диагностики и терапии для отечественного здравоохранения.

Диссертационная работа является актуальной, обладает научной новизной и практической значимостью. Научные положения, выводы и рекомендации диссертации являются достоверными и обоснованными.

Основные результаты работы опубликованы и прошли апробацию на международных и российских конференциях.

Диссертация Макарова Владимира Игоревича «Спектральные свойства кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия при лазерном возбуждении» отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК при Минобрнауки России, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а также соответствует паспорту специальности 01.04.21 – лазерная физика.

Таким образом, Макаров Владимир Игоревич заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 – лазерная физика.

Диссертационная работа, автореферат и отзыв рассмотрены на заседании учёного совета Института биомедицинских систем Национального исследовательского университета «МИЭТ» 01.02.2018 г., протокол №2.

Директор Института биомедицинских систем
Национального исследовательского университета «МИЭТ»,
доктор физико-математических наук, профессор



Селищев Сергей Васильевич

Профессор Института биомедицинских систем
Национального исследовательского университета «МИЭТ»,
доктор физико-математических наук, профессор



Терещенко Сергей Андреевич

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет «Московский институт электронной техники»

124498, г. Москва, г. Зеленоград, площадь Шокина, д. 1

Тел.: +7(499) 731-44-41

E-mail: netadm@miee.ru

С отзывом ознакомлен 15.02.2019

