

## **СТЕНОГРАММА**

Заседания Диссертационного совета 24.1.037.01 созданного на базе  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова Российской академии наук

18 января 2023 года

Защита диссертации  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

**Миркасымова Азиза Бахтияровича**

**«Блокада системы моноклеарных фагоцитов для повышения  
эффективности доставки наноагентов в опухоль»**

по специальности 1.5.3 - молекулярная биология

Москва 2023 г.

## СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета 24.1.037.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 18 января 2023 года.

Председатель  
диссертационного совета д.х.н., академик РАН Мирошников Анатолий Иванович

Ученый секретарь  
диссертационного совета д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1.	Академик РАН, д.х.н.	Мирошников Анатолий Иванович	(1.5.6)
2.	Член-корр. РАН, д.х.н.	Липкин Валерий Михайлович	(1.5.6)
3.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(1.5.6)
4.	Д.б.н.	Ажикина Татьяна Леодоровна	(1.5.3)
5.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(1.4.9)
6.	Д.х.н.	Белогуров Алексей Анатольевич	(1.5.3)
7.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(1.5.6)
8.	Д.х.н.	Генералова Алла Николаевна	(1.5.6)
9.	Академик РАН, д.б.н.	Деев Сергей Михайлович	(1.5.3)
10.	Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(1.4.9)
11.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(1.5.3)
12.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Завриев Сергей Кириакович	(1.5.6)
13.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(1.5.3)
14.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(1.5.6)
15.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(1.5.3)
16.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(1.5.3)
17.	Член-корр. РАН, д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(1.4.9)
18.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Тоневицкий Александр Григорьевич	(1.5.6)
19.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(1.4.9)
20.	Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(1.4.9)
21.	Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(1.4.9)

**Мирошников А.И., председатель:** Уважаемые коллеги! Значит, первый Ученый совет в этом году у нас защитный. С чем вас поздравляю. Значит, кворум у нас с учетом тех, которые у нас на удаленке, есть. Поэтому мы начинаем заседание ученого совета. У нас сегодня две защиты. Первая защита Миркасымова Азиза Бахтияровича «Блокада системы моноклеарных фагоцитов для повышения эффективности доставки наноагентов в опухоль» на соискание кандидата биологических наук по специальности Молекулярная биология.

Научный руководитель академик РАН Деев Сергей Михайлович. Официальные оппоненты: Авдонин Павел Владимирович доктор биологических наук, профессор из Института биологии развития. Второй Абакумов Максим Артемович кандидат химических наук, доцент кафедры физического материаловедения, заведующий лабораторией Биомедицинские материалы из МИСиС. Ведущая организация Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра Курчатовский институт. Вопросы по есть? Нет, вопросов не вижу. Так, пожалуйста,

**Олейников В.А., ученый секретарь:** материалы личного дела

**Мирошников А.И., председатель:** материалы личного дела у нас есть все, да?

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Да. Значит, Миркасымов, Азиз Бахтиярович окончил бакалавриат Московского Физтеха в 16 м году по специальности прикладная математика и физика. В 18 м году окончил магистратуру Опять физтех по специальности той же прикладная математика и физика. В 22 году закончил аспирантуру нашего института по специальности Молекулярная биология, кандидатский экзамен по специальности Молекулярная биология сдан оценкой Хорошо. Значит, в настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Лаборатории молекулярной иммунологии ИБХ. Работа выполнена в ИБХ. Научный руководитель, как уже сказано, академик Сергей Михайлович Деев по теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе три статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и WebofScience. Объявление о защите, автореферат , диссертация размещены на сайте ВАК вовремя. Это 10 ноября 22 го года. И все необходимые документы в деле есть.

**Мирошников А.И., председатель:** Пожалуйста

**Олейников В.А., ученый секретарь:** вопросов нет

**Мирошников А.И., председатель:** вопросов нет. Пожалуйста, диссертант. 20 минут вам для доклада.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** (излагает основные положения диссертационной работы)

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, коллеги, вопросы. Николай Владимирович, пожалуйста.

**Бовин Н.В.:** Вопрос Номер один. Вы изучили эффективность блокады от свойств наночастиц. Спасибо. Я не увидел здесь. Может быть, это у вас есть, но не прозвучало. А изучали ли вы селективность этой блокады относительно самих макрофагов? То есть все ли макрофаги таким образом блокируется или есть макрофаги, которые не чувствительны

к такой блокаде? То есть, есть ли селективность самих клеток макрофагов по отношению к этому процессу.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Да, спасибо за вопрос. Мы этого здесь не изучали. Но в принципе могу сразу дать ответ, что, очевидно, не все макрофаги блокируются таким образом. Именно поэтому мы видим значительное накопление частиц в селезенке. То есть когда мы блокируем макрофаги печени, после этого селезенка достаточно хорошо начинает фильтровать, как минимум. Соответственно, есть также макрофаги и в других тканях. Но мы здесь проводим блокаду, она, я бы сказал, неспецифичная, но в основном блокирует печень за счет пассивной доставки именно наночастиц в макрофаги печени.

**Бовин Н.В.:** У вас есть хотя бы очень грубая оценка. Какая часть всех макрофагов организма таким образом блокируется?

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Нет, такой оценки мы не проводили. Нет.

**Бовин Н.В.:** И вы подвели, меня и всех слушателей ко второму вопросу. Блокируются не все макрофаги. Блокада зависит от локализации макрофагов. Макрофаги есть и в самих опухолях. И в противоопухолевом иммунитете макрофаги играют очень большую роль, как известно. А была ли у вас оценка того тех событий, которые последуют за накоплением терапевтических, наночастиц в опухоли? Не будет ли блокада макрофагов очень плохим фактором для собственно терапии тех событий, которые следуют за накоплением, собственно терапевтических эффектов, удаления продуктов распада опухолей и так далее? Я понимаю, что это не было предметом вашей диссертации, но наверняка у вас было рассмотрение этого вопроса, какой то мозговой штурм на эту тему. Наверняка это рассматривалось.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Да, конечно. Мы это рассматривали не в этой работе, это не вошло в эту работу. А сейчас мы проводим другие работы с другими стратегиями блокады и в том числе проверяем терапию. конечно, без терапии это все не имеет такого значения. Вот. Соответственно, терапия действительно улучшается, но эти работы мы еще не закончили, они еще не опубликованы. хотя опубликованы работы моих коллег, которые проводили блокаду, другими стратегиями. И там, конечно, влияние на терапию значительное, то есть позволяет гораздо лучше лечить опухоли. А кроме того, по поводу макрофагов, которые играют роль в противоопухолевом иммунитете. есть макрофаги и которые позволяют бороться с опухолью, но иногда они, наоборот, позволяют развивать опухоль и, соответственно, есть разрастаться опухоли. Соответственно, есть множество работ, которые нацелены именно на такие макрофаги, чтобы их уничтожить. и показано, что это воздействие на такие макрофаги позволяет сдерживать разрастание опухоли.

**Бовин Н.В.:** Спасибо.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо вам. Еще вопросы. Не вижу. у вас вопрос?

**Сапожников А.М.:** Вот вы показывали гистологию, накопление, распределение магнитных частиц, в опухолевой ткани. И там, если у вас была общая картинка, опухоль была равномерно окрашена, то вот на этой картинке как то точно локально расположены эти частицы. С чем связана эта особенность? Там просто локализуется моноциты, макрофаги или, быть может, это сосуды? Вы анализировали особенности вот этих зон, где накапливаются частицы в опухолевой ткани?

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Да, Значит, это в основном сосуды и периваскулярное пространство. В некоторых местах там было кровоизлияние, и, соответственно, частицы попадали не только, соответственно, во внеклеточные пространство. И в основном частицы накапливались в клетках вот этого инфильтрата. В общем, глубоко в ткань они не проникали. Но это связано в первую очередь с постановкой эксперимента. Потому что мы проводили блокаду, магнитные. Не блокаду, прошу прощения, проводили доставку наночастиц посредством магнитного поля. Соответственно, они накапливались в сосудах. И подразумевается, что эти частицы потом либо несут лекарственное средство и его высвобождает в области опухоли, либо их используют для гипертермии. При приложении магнитного поля. Вот, и кроме того, здесь вот эти опухоли, они, вот эти гистологические срезы были получены на опухолях, когда мало времени прошло после введения магнитных частиц. То есть для того, чтобы частицы проникали вглубь ткани, требуется значительное время.

**Сапожников А.М.:** Но вы говорите доставку осуществляли магнитным полем. В этом случае как будто бы на фотографиях с животными у вас магнитное поле не помогло направить частицы в опухоль? Лишь блокаторы помогли.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Здесь совместный эффект.

**Сапожников А.М.:** Правый край.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Здесь совместный эффект. То есть мы проводили магнитную доставку

**Сапожников А.М.:** совместно с магнитным полем и блокаторами. А, хорошо.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Но, тем не менее, сама блокада на третьей картинке. Сама то есть магнитная доставка не позволила накопить частицы значительного в опухоли. Четвертое картинка это совместная и магнитная доставка и блокада.

**Сапожников А.М.:** Спасибо.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Еще вопросы. не вижу. Ну, отдохните пока. Сергей Михайлович, пожалуйста.

**Деев С.М., научный руководитель:** Дорогие коллеги, ну о работе я не могу говорить, поэтому я говорю о человеке. Значит, вот, ну, наверно, у меня уже третья молодость. Много было значит аспирантов и докторантов. И вот в науке бывают люди, талантливые ученые, которые многое могут. И мне везло. У меня был прекрасный вот Никитин Максим Петрович, Виктория Олеговна Шипунова, замечательные люди. И вот бывают люди, с которыми очень приятно работать. Они обладают прекрасным характером. Такие очень в коллективе, берут на себя много хозяйственных вещей. И вот такие вещи они редко сочетаются. Чтобы в одном человеке очень редко бывает. И вот Азиз чтобы не говорить долго, вот это редкий сплав прекрасного, талантливого ученого и человека, с которым очень приятно работать, очень устойчивая, хорошая психика, прекрасные отношения в коллективе, очень много делает для лаборатории.

Вот, ну и еще так, чтобы не общие слова. Если кто то помнит, недавно, относительно недавно мы поздравляли Азиза с присуждением ему медали за спасение погибающих. То есть человек еще не только в науке много чего сделал, но и спас детей. Ну, если вы

помните историю, я сейчас не буду долго останавливаться. Награжден медалью. Вот. Так что в такие молодые годы очень много успел. Мое отношение - самая высокая оценка. Спасибо.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо вам. Отзыв ведущей организации, пожалуйста.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Ну, я позволю себе начать сначала с заключения организации, в которой выполнялась работа. Ну и, соответственно, диссертация Миркасымова Азиза. «Блокада системы моноклеарных фагоцитов для повышения эффективности доставки наноагентов в опухоль». Была рассмотрена на соответствующем семинаре Института отдела Института биорганической химии. Ну, здесь подчеркивается научный руководитель, который только что выступил, академик Сергей Михайлович Деев. Значит, диссертация тема утверждена 28 сентября 2022 года. Подчеркивается актуальность. Да, вот самое главное: в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание степени кандидата биологических наук. В частности, и дальше идет актуальность работы, научная новизна, которая очень хорошо отражается в этом заключении. Далее теоретическая и практическая значимость. И вот важный момент - личный вклад соискателя. Здесь описаны три работы приводится, и, соответственно, подчеркивается совершенно четко вклад соискателя в рамках вот этих вот работ. В первой работе лично синтезировал, охарактеризовал ряд наноагентов, во второй соискатель совместно с соавторами синтезировал и характеризовал наночастицы. В третьей значит тоже синтез, экспериментальная работа. То есть подчеркивается личный вклад диссертанта в данную работу диссертационную.

Дальше, достоверность тут сомнений не вызывает. Далее подчеркивается, что соответствует заявленной специальности молекулярная биология по отрасли науки, биологические науки. Соблюдены все требования, изложены в работах соответственно, как надо. И, соответственно, диссертация рекомендуется к защите. Заключение принято на заседании отдела иммунологии ИБХ РАН. Присутствовали 20 человек и голосование за 20. Ну и, соответственно, протокол от 10 октября 2022-го года подписан секретарем заседания Шрамова и замдиректора института Ямпольский. И, соответственно, утверждено директором нашего института академиком Александром Габитовичем Габитовым. Это что касается заключения организации, где выполнялась работа.

Теперь отзыв ведущей организации. Ну, сразу скажу, что отзыв ведущей организации полностью положительный. Ну, опять же, подчеркивается актуальность работы, связанная с проблемами доставки лекарственных соединений, и как раз все соответствует названию этой работы. Содержание работы, классическое построение 110 страниц, восемь таблиц, 28 рисунков. И вот здесь поразительно, конечно, обзор литературы, содержащий 258 источников. То есть очень солидный обзор, научная новизна. Значит, блокаторы посредством твердых наноматериалов это наночастицы оксида кремния, магнетита, ферригидрита. И далее подчеркивается, что в ходе диссертационной работы был разработан низкотоксичный блокатор нового поколения. В разы продлевающий циркуляцию наноагентов в кровотоке и их накопление в опухолевой ткани, в опухоли мышцы.

Значит, важно, что метод этот метод блокады исследования Миркасымова благодаря своей системности и последовательности формирует общую картину и значительно упрощает поиск и разработку новых, более эффективных, биосовместимых блокаторов, что составляет большую главную ценность данной диссертационной работы. Диссертация

отличается своей связностью, методы самые современные. Результаты работы опубликованы в хороших рецензируемых журналах. Ну и здесь вот вопросы и замечания.

Первое - в работе подробно исследована блокада твердыми наноматериалами, однако не затронута блокада известным высокобиосовместимым блокирующим агентом - липосомами. Было бы интересно провести прямое сравнение липосомальных блокаторов с теми, что изучены в работе.

Второе - частицы, покрытые некоторыми органическими полимерами, проявляют очень сильные, блокирующие свойства. Имеет смысл проверить эффективность блокады этими полимерами без наночастиц.

Третье - разработанные в ходе диссертационной работы новые блокирующие агенты достаточно долго остаются в организме. В качестве ядра блокирующей частицы имеет смысл попробовать более короткоживущие биосовместимые агенты.

Четвертое - в исследовании эффективности блокаторов в зависимости от их покрытия изучены только три покрытия. Если проверить большое количество полимерных покрытий, возможно, получится найти что-то более эффективное, чем карбоксиметил-декстрин. Кроме того, не изучена эффективность наиболее известного покрытия для наночастиц полиэтиленгликоля.

Пятое - таблица один не является полной. В ней отсутствуют некоторые недавно вышедшие статьи по СМФ блокаде.

Шестое - в данной диссертационной работе СМФ блокада подробно изучается на *in vivo* моделях. демонстрация механизма блокады на клетках могла бы дополнить эту работу. Данные вопросы, замечания имеют рекомендательный характер и могут служить отправной точкой для дальнейших исследований.

Заключение. Диссертация Миркасымова является оригинальной и весьма актуальной научной работой, в которой автором посредством самостоятельно выполненных исследований получены новые, теоретически и практически значимые результаты, сформулированы обоснованные в диссертации и достоверные выводы.

Ну и, соответственно, диссертационная работа соответствует правилам, установленным ВАКом. И, соответственно, диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности. 1.5.3 - Молекулярная биология. Отзыв подготовил зав. Лабораторией функциональной энзимологии, Доктор химических наук, профессор РАН Демидюк. Ну и далее этот отзыв ведущей организации утвержден директором Института молекулярной генетики Костровым.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо вам, Владимир Александрович. Азиз, ну давайте, на шесть вопросов Отвечайте, почему вы полиэтиленгликоль не использовали?

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Значит, по поводу блокады липосомами. Да, значит, известно, что липосомы высоко биосовместимы, и уже проводились работы по блокаде системы мононуклеарных фагоцитов этими агентами. Но известно, что эта блокада позволяла продлевать циркуляцию частиц примерно в три раза. То есть по сравнению с блокадой теми агентами, которые мы исследовали в работе, это не очень много.

Конечно, интересно, тем не менее, использовать. Ну, интересно провести прямое исследование, сравнивая липосомы с блокирующими агентами новыми, которые были разработаны. Мы сейчас работаем над такой работой, где проводим блокаду липосомами. Но наиболее интересно, наверное, использовать липосомы, так как они высоко биосовместимы, как отправную точку для создания более эффективных и низкотоксичных блокирующих агентов по аналогии с тем, что мы создали с ферригидритом.

По поводу второго вопроса. Частицы, значит, которые мы использовали с разными полимерными покрытиями, в том числе с карбоксиметил-декстраном, который показал высокую эффективность. Да, действительно, в контроле нужно по хорошему провести эксперимент, показывающий, что именно наночастицы покрытые таким полимером, имеют высокую эффективность. Но на самом деле есть литературные данные людей, которые уже проводили блокаду полимерами различными. И там тоже не было прям выдающихся результатов.

Кроме того, важно понимать, что когда мы используем наночастицы блокатора на основе наночастиц, мы пользуемся пассивной доставкой в макрофаги печени. То есть если мы перейдем на молекулярный уровень, будем использовать молекулы полимеров, то блокада будет уже не такой специфичной, более обширной, и понадобятся более высокие дозы. А по поводу третьего вопроса. Да, значит, действительно, мы проследили, что в ферригидрит достаточно долго остается в организме, и если мы хотим развивать эту это направление, то, конечно, нужно в качестве ядра использовать какие-то либо липосомы, либо полисахариды, полимерные частицы, которые разрешены для использования в человеке, которые быстрее деградируют и менее токсичные.

По поводу четвертого вопроса. Да, действительно, было исследовано мало, мало полимеров, причем в итоговую работу вошли не все результаты. Тем не менее, конечно, нужно по хорошему исследовать больше, и, возможно, мы найдем что то лучше, чем карбоксиметил-декстран. Но применение полиэтиленгликоля для блокирующих частиц, вероятно, не будет правильным ходом. Почему? Потому что ПЭГ используется как стелс-покрытие для частиц. То есть он маскирует частицы от макрофагов, он уменьшает их взаимодействие с макрофагами, и, соответственно, блокада будет менее эффективной. А также на полиэтиленгликоль известно, что бывают случаи возникновения иммунного ответа. Вырабатываются антитела, и после этого уже такой блокатор нельзя было бы использовать.

А по поводу таблицы, в которой не указано недавно вышедшей статьи, да, действительно, упустил две работы. Во первых, это работа моих коллег по блокаде посредством введения антител к эритроцитам. И вторая работа - это была проведена блокада экзосомами, с малой интерферирующей РНК к тяжелой цепи клатрина, которая позволяла, соответственно, через три дня получить эффект, что следом введенные экзосомы дольше циркулировали и лучше накапливались в мишени.

Так и последний вопрос. Да, мы в этой работе не показали результатов на клетках. Почему? Потому что, чтобы быстрее получить результат, мы проверяли сразу на *in vivo* моделях, потому что не все те наноагенты, которые работают *in vitro*, как известно, далеко не всегда работают *in vivo*. Соответственно, чтобы сразу получить ответ на вопрос, будет ли работать тот или иной агент, мы проверяли их на мышинных моделях. и действительно, для демонстрации механизма СМФ блокады, конечно, необходимы *in vitro* эксперименты, и мы сейчас над этим работаем. Спасибо.



**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Так в совет поступили два отзыва на автореферат. Оба отзыва полностью положительные. По первому отзыву я просто прочитаю, кто написал. Это PhD лаборатории Бионанофотоники Национального исследовательского ядерного университета МИФИ Антон Александрович Попов. Положительный полностью отзыв и второй полностью положительный. Достоинства работы отмечаются и так далее. Но в качестве небольшого замечания хотел бы отметить неудачно, на мой взгляд, сформулированные выводы, в которых не упоминается о влиянии состояния организма и генетического фактора на эффективность блокады, несмотря на то, что важность этих факторов неоднократно подчеркивается самим автором ранее. Также имеют место незначительные стилистические ошибки, но указанные недочеты не снижают общей положительной оценки. Подписано кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, зам. зав. лаб. нанобиотехнологии МФТИ Черкасов Владимир Рюрикович.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, Павел Владимирович, пожалуйста.

**Авдонин П.В., оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный)*

Глубокоуважаемый председатель, члены Ученого совета, Коллеги. Как, Как хорошо известно, направленный транспорт лекарств с помощью наночастиц уже давно рассматривается как перспективный подход для лечения онкологических и ряда других заболеваний. И за последние 10 лет и даже более была выполнена масса исследований в опытах, в опытах *in vitro* на культуре клеток, в которых получились очень интересные результаты. Но, тем не менее, когда дело дошло до использования этого метода на животных, начались большие сложности, которые были связаны, прежде всего, с тем, что все эти частицы эффективно практически полностью подвергались поглощению ретикулоэндотелиальной системой, печенью и селезенкой, и какие то подходы не давали эффекта, и в настоящее время был предложен принципиально новый метод подавления активности мононуклеарных фагоцитов, который, собственно, осуществляет захват данных частиц. И было проведено исследование этого процесса. Кроме того, были разработаны новые наночастицы, которые могут быть использованы для подавления системы мононуклеарных фагоцитов, СМФ системы, как пишет автор данной работы Миркасымов Азиз Бахтиярович.

Благодаря этому методу удалось увеличить время циркуляции терапевтических частиц и эффективность их доставки за счет поглощения высоких доз малотоксичных блокирующих агентов. Таким образом, была решена важная научно практическая задача, которая имеет очень хорошую перспективу в плане разработки новых подходов к терапии онкологических заболеваний и ряда других болезней. В отношении, если говорить собственно о диссертации, то она достаточно стандартная, изложена на 110 страницах. Имеется большое количество рисунков, она хорошо иллюстрирована. Как уже было отмечено в отзыве ведущей организации литературный обзор включает 258 ссылок, что, в общем то, отражает глубокое понимание диссертантом данной проблемы. Он, обзор литературы, начинается с описания применения наночастиц в медицине. Затем рассматриваются различные механизмы и проблемы, с которыми сталкивается наномедицина *in vivo*, механизм поглощения наночастиц клетками в составе белковой короны, наночастиц в кровотоке и ряд других проблем, рассмотрены в разделе материалы и методы и подробно описаны используемые в работе технологии синтеза наночастиц и их модификации. Приведен широкий спектр методов оптимизации наночастиц, а также

протоколы применения агентов *in vivo* и методы блокады системы мононуклеарных фагоцитов.

Описаны используемые модели и методы исследования токсичности. Среди полученных результатов дано описание ряда синтезированных блокирующих агентов, отличающихся друг от друга по физико-химическим свойствам и фармакологическим параметрам, в том числе по распределению в органах. Использование этих агентов при заключении блокады системы мононуклеарных фагоцитов позволило определить зависимость проявляемого эффекта от дозы блокатора, от размера блокирующих частиц, от зета потенциала наночастиц. И, наконец, от типа полимерного покрытия данных частиц. Автором была изучена эффективность применения блокирующих частиц, эффективность применения метода в различных моделях, в том числе опухолевых, в модели острого воспаления. Во второй части работы, полученные знания были применены для рационального дизайна нового блокирующего агента, представляющего собой ферригидрит, покрытый специальным полисахаридом, а также изучена эффективность его применения и связанной с ним токсичности. Таким образом, в работе впервые были широко изучены зависимость эффективности блокады системы мононуклеарных фагоцитов от физико-химических свойств наноагентов как блокирующих, так и целевых. Впервые показана эффективность метода в различных *in vivo* моделях. Произведен рациональный дизайн высокоэффективного и низкотоксичного блокирующего агента, позволившего почти в 10 раз продлить циркуляцию целевых частиц и в десятки раз увеличить эффективность доставки в опухоль. Это было показано в докладе, когда наблюдалось эффективное накопление наночастиц непосредственно в опухолевой ткани. Таким образом, полученные в результате работы результаты отличаются высокой оригинальностью и практической значимостью и высокой научной ценностью.

Самая диссертационная работа Миркасымова Азиза Бахтияровича написана очень логично и четко. Экспериментальные методы и модели достаточно подробно охарактеризованы и соответствуют мировому уровню. Об этом свидетельствуют публикации результатов данной работы, многие из которых, все они имеют высокий импакт-фактор, являются высоко авторитетными научными изданиями. Тем не менее, в работе имеется, с работой имеют следующие вопросы, которые носят, вопросы, замечания и рекомендации.

Была озвучена блокада системы мононуклеарных фагоцитов наноматериалами, однако более привычны устоявшаяся в данной области практика проводить блокаду чего либо антителами. Применима ли данная технология для решения этой задачи?

Выводы сформулированы очень сжато. Могло иметь смысл раскрыть его более, раскрыть их более подробно.

Эффективность блокады системы мононуклеарных фагоцитов была изучена на различных линиях мышей. Однако, как мне кажется, было бы интересно характеризовать этот метод не только на мышинных моделях, но и на других животных более крупных. Может быть, использовать для этого для начала крыс. Данные замечания не умаляют научной значимости и практической ценности работы Миркасымова, которая представляет собой полноценное научное исследование, которое приближает нас к решению одной из ключевых проблем наномедицины. Таким образом, диссертационная работа Миркасымова полностью отвечает требованиям, предъявляемым диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Соответствует положениям Правительства Российской Федерации присуждения ученых степеней и от 2012, 2016, 2017, и 2021 годов.

А сам диссертант, несомненно, заслуживает присуждение степени по специальности молекулярная биология.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо, Павел Владимирович. Азиз, будете отвечать?

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Да, разумеется, буду отвечать.

Так, по поводу блокады антителами. Значит, конечно, нам тоже приходила в голову эта мысль. Мы пробовали блокировать макрофаги общей фракцией иммуноглобулинов. Но ничего такого эффективного у нас не получилось. То есть токсичность возникала раньше, чем проявление эффекта блокады. Кроме того, по поводу блокады антителами выпущена, конечно, работа моих коллег, которые вводили антитела к собственным эритроцитам организма, и такие антитела связанные, такие эритроциты, связанные антителами, узнавались макрофагами и, соответственно, поглощались ими и блокировали систему мононуклеарных фагоцитов. То есть опосредованно таким образом. То есть не сами антитела, а эритроциты, связанные антителами, блокировали макрофаги. То есть это работа, там прямо хороший эффект был показан, но он связан с незначительным снижением гематокрита, временным снижением гематокрита. А кроме того, антитела можно использовать более направленно. Мы этого пока не пробовали. То есть если мы пока пробовали только общую фракцию иммуноглобулинов, можно пытаться направленно блокировать определенные рецепторы на макрофагах, в том числе Fc-рецепторы, рецепторы класса Toll-подобных и scavenger рецепторов, например. Ну, это надеемся попробовать в будущем. Но нужно понимать, что когда мы опять же переходим на молекулярный уровень, у нас нет пассивной доставки в макрофаги, и получается, что блокада будет менее специфичной и понадобится большие дозы для достижения нужного эффекта.

По поводу второго замечания. Если выводы расширить, то, наверное, стоило бы их делать следующим образом. Конечно, изучено влияние дозы, размер зета-потенциала и покрытия частиц блокатора на эффективность. А именно был показан значительный эффект блокады при использовании пяти миллиграмм частиц на мышь. Кроме того, показано, что субмикронные частицы лучше блокируют, чем наноразмерные. Зета- потенциал частиц блокатора практически не влияет на эффективность блокады, и эффективность блокатора определяется в первую очередь покрытием частиц, а наиболее эффективным покрытием оказался карбоксиметил-декстран.

СМФ Блокада продлевает циркуляцию 50, 100 и 200 нм частиц. СМФ Блокада эффективно применима в различных *in vivo* моделях для широко используемых здоровых мышей линии Бальб, Блэки и CD-1, а также в случае модели острого воспаления, меланомы и рака молочной железы. Кроме того, разработанный на основе ферригидрита СМФ блокатор, продлевает циркуляцию наночастиц в кровотоке, улучшает направленную доставку и имеет низкую токсичность. Значит, это более расширенные выводы.

И последний вопрос по поводу *in vivo* модели. Да, действительно, имело бы смысл расширить эксперименты и показать действенность СМФ блокады, например, в иммунодефицитных мышах. В общем то, мы это уже делаем. Используем, правда, другую стратегию блокады. Поэтому там, конечно, блокада работает, но численно сравнить не можем из за применяемой другой стратегии блокады. И кроме того, конечно, на крысах нужно было показать. Мы этого не делали. Но есть литературные данные о том, что блокада уже применялась на крысах и, в общем то, там все работало. Спасибо.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, Максим Артемович, будьте добры, второй оппонент, где он? А, здесь?

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Да, да.

**Абакумов М.А., оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный)*

Здравствуйте, уважаемые члены Совета! Уважаемые коллеги! Позвольте, я тогда зачту свой отзыв. Ну, действительно, уже сложно выступить последним. Много было сказано может, я буду повторяться, но, тем не менее, вот подход использования наночастиц для коррекции фармакокинетики и некоторых недостатков лекарственных препаратов это очень популярное направление. И использование наночастиц позволяет, как повысить эффективность доставки, понизить токсичность препаратов, обеспечить их адресную доставку. И сейчас существует порядка 60 или 70 препаратов в клинике суммарно по всему миру. Но ряд проблем остается нерешенных. И, в общем, основная из них это обеспечение высокой эффективности доставки. Вот тут было указано данные, что не более 1% доставляются. Данные литературного обзора, которые были недавно опубликованы, и работа Миркасымова Азиза Бахтияровича, как раз направлена на улучшение стратегии этой доставки. И это относительно новое направление, оно не связано с модификацией поверхности, с введением каких то адресных лигандов, а можно сказать, использовать собственные возможности организма насыщения макрофагов и обеспечения более адресной доставки.

Я считаю, что на самом деле это довольно новое популярное направление и очень актуальное, которое само по себе позволяет увеличить время циркуляции. А если его, допустим, комбинировать с адресной доставкой, то может дать еще более интересные результаты. Диссертация представляет собой спланированное логичное исследование. Все довольно четко. Использован большой спектр современных методов анализа. Как касательно самих наночастиц, так и биологических экспериментов. Результаты представлены в 17 публикациях, из них три статьи в международных рейтинговых журналах. Ну, уже отмечали. Я тоже заметил, что огромное количество источников было использовано. Литобзор очень полный и хорошо освещает проблему. Сама диссертация построена по традиционной схеме, состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, результатов, обсуждения. Литературный обзор посвящен механизмам взаимодействия наноструктурированных материалов с тканями и органами и как раз обсуждают различные стратегии увеличения эффективности доставки. В материалах и методах описаны основные эксперименты. Все достаточно подробно. Все, в принципе, можно повторить. Результаты, я считаю довольно важные. Это новые данные. Они имеют систематический характер, позволяет обобщить влияние различных параметров, в принципе общих для наночастиц на их захват ретикулоэндотелиальной системой. И дальше могут быть, я надеюсь, что будут использованы другими коллегами для того, чтобы подобрать наиболее правильные частицы для их работ. Принципиальных замечаний, которые влияют на достоверность полученных данных и обоснованность результатов у меня нет. Но есть ряд вопросов, которые у меня остались.

Ну, мне не очень нравится термин наноагенты. Есть термин наночастицы и, в общем, общепринятый. И никакого смысла применения наноагентов термина я здесь не вижу.

Я занимаюсь синтезом наночастиц. Хотел сказать, что все-таки, используя наночастицы, которые вы покупаете, стоит как-то более подробно сконцентрироваться на исследовании их свойств. Например, на рисунке 23. Приведен, собственно, анализ этих наночастиц, и

там очень большое количество агрегатов. И не очень понятно это произошло в процессе хранения или это связано с пробоподготовкой? Потому как те частицы, что получал Азиз сам по себе, они на них представлены в виде единичных частиц и, в общем, не вызывает сомнения их состояние.

Третье, что автор целый подраздел посвятил влиянию, как линия мышей влияет на эту эффективность. Но объяснение какое-то довольно скупое: обуславливается разным количеством макрофагов и неким доминирующим иммунным подтипом. Ну, все-таки хочется как-то более подробно услышать, как это влияет.

Еще замечание, что указание дозы пять миллиграмм вводит в заблуждение, везде написано пять миллиграмм, пять миллиграмм на мышь, пять миллиграмм на килограмм, пять миллиграмм чего? Потому что вводят по железу, вводят по тотальной массе вместе с кремнием, например, или покрытием. Тоже как-то стоило бы уточнить.

Ну и лично от меня вопрос такой, А можно ли использовать эти наночастицы, Ну, которые здесь были использованы, магнитные или ферригидридные для того, чтобы потом увеличивать время циркуляции других, наночастиц, не твердых, то есть не магнитных. То есть, насколько можно сказать, универсален этот подход или все таки нужно блокировать теми частицами, которыми вы потом будете лечить? Ну, я не считаю, что эти замечания умаляют значимости. Это больше к оформлению, вот. и диссертационная работа Миркасымова Азиза Бахтияровича соответствует критериям, в том числе пункту девять установленным положением о присуждении ученых степеней, а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Спасибо. Азиз, ну, давайте отвечайте на вопрос.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Хорошо, да, большое спасибо за замечания и вопросы. По поводу термина наноагентов. Конечно, он не является общепринятым. С вами полностью согласен. В диссертации используется исключительно по субъективным эстетическим соображениям.

По поводу так, по поводу коммерческих частиц. Значит, замечание было по вот этому рисунку. Да, здесь для сканирующей электронной микроскопии частицы были высушены, и в процессе они агрегировали. Мы не изучали их состава, но точно знаем, что в физиологических растворах они стабильны. Это, во-первых, мы изучали методом динамического света рассеяния, а также мы изучали их фармакокинетику и биораспределение их. Они достаточно долго циркулировали в кровотоке. То есть если использовать частицы, которые не обладают агрегационной стабильностью, то это сразу приводит к очень быстрой кинетике, обычно они очень быстро выводятся, поглощаются органами. А именно, значит если вот это распределение для вот этих коммерческих частиц, в основном это печень, селезенка и почти ничего в легких то стандартно для частиц, которые агрегируют, они очень хорошо поглощаются легкими, накапливаются там. В общем, здесь мы видим то, что частицы агрегационно стабильны. По поводу линии мышей более подробное объяснение. Значит, когда мы планировали этот эксперимент в голове, было следующее, что, во-первых, разные линии мышей, они могут отличаться по размеру органов, То есть в первую очередь, я видел литературные данные о том, что селезенка практически в два раза отличается у мышей дикого типа и каких то линий мышей, кажется, вот эти блэки. То есть мы подразумеваем, что у разных линий мышей

может быть разный размер органов, разное количество макрофагов в этих органах. А кроме того, эти макрофаги, как известно, имеют разную поляризацию. Если грубо, то это M1 макрофаги и M2 макрофаги. M1, те, которые запускают иммунный ответ для уничтожения внутриклеточных патогенов. M2 макрофаги, соответственно, запускают это T2 ответ для уничтожения внеклеточных паразитов. А кроме того, известно, что M2 макрофаги имеют воздействия, связанные с ремоделированием поврежденных тканей, ангиогенезу, а также опухолевому росту, о которых мы говорили ранее. Кроме того, были работы о том, что истощение макрофагов, то есть это другая стратегия, не блокада макрофагов временная, а именно истощение макрофагов, когда их уничтожают посредством токсичных агентов клондроната. Оказывается, что оно по-разному действует, разную эффективность имеет в различных линиях мышей. И кроме того, конечно, макрофаги разной поляризации будут иметь разные рецепторы на их поверхности и, соответственно, по-разному захватывать, поглощать частицы.

Имея все это в голове. Соответственно, мы провели эксперимент на разных линиях мышей. Но эксперимент показал, что хотя частицы в контроле имеют разную циркуляцию, но СМФ блокада, в общем-то, примерно одинаковая, работает во всех линиях. Конечно, разница есть, ее имеет смысл учитывать, но из-за того что эффективность СМФ блокады оценивается отношением времени циркуляции в контроле и после блокады, здесь получается достаточно большая погрешность и при этих небольших различиях между экспериментами в эффективности блокады мы не можем статистически значимо различить их между собой. Поэтому, в общем-то, в работе сделан вывод о том, что СМФ блокада примерно одинаково работает во всех линиях мышей. Конечно, есть различия, но не такие большие. А по поводу дозы блокатора. Да, верное замечание. Мы использовали пять миллиграмм на мышь. Здесь мы не нормировали на каждую конкретную мышь, то есть так, как мы заказывали мышей в питомнике, то вот линии бальбы и блэки имели достаточно узкий разброс 18- 22 грамма. И различие, соответственно, порядка 10%. Оно не вносило такой существенный вклад по сравнению с той погрешностью, которая проявляется в экспериментах на *in vivo* моделях. Поэтому мы не учитывали и, в общем-то, использовали пять миллиграмм на мышь. Единственно значит, что, во первых, это пять миллиграмм имеется в виду общая масса, не только железо, не только покрытие, именно общая масса частиц. И здесь важно, что мыши линии CD-1, они, конечно, были значительно больше, чем остальные практически почти в два раза. А соответственно, для них тоже использовалась доза в пять миллиграмм. И если считать, что если нормировать на массу, хотя, наверное, правильнее не на массу мыши, а на размер печени, потому что блокируем мы в основном печень, то можно сказать, что на мышей CD-1 можно было бы использовать больше блокирующих частиц. И ожидать от этого большую эффективность, чем вот эти 3-4%, три-четыре единицы, то есть. Однако, опять же, с учетом, с учетом большой погрешности экспериментов в *in vivo* моделях и вычисление вот этого эффекта коэффициента эффективности блокады, в общем-то, дополнительных никаких выводов отсюда сделать не получается. Поэтому вывод, сделанный в работе, что СМФ блокада работает одинаково во всех линиях мышей, он, в общем-то, остается верным, независимо от нормировки на массу мышей. А по поводу последнего вопроса. Значит, известно, что есть литературные данные, где СМФ блокаду используют для продления циркуляции, в том числе липосом и множество разных агентов. По поводу специфичности, по литературным данным есть разные ответы ученых на этот вопрос. Некоторые, я бы сказал, что большинство, говорят о неспецифичности блокады, что один и тот же блокирующий агент позволяет продлевать циркуляцию практически всех агентов. Тем не менее, существуют работы, которые говорят о том, что для каждого, для каждой частицы требуется свой блокирующий агент. В общем то, наверное, это

объясняется тем, что макрофаги, во первых, у разных частиц разные пути выведения из кровотока. Это может быть печень, может быть селезенка, может быть легкие, что то еще. А кроме того, они могут поглощаться, узнаваться макрофагами посредством различных рецепторов. Соответственно, если вдаваться в подробности, то, наверное, существует некий, я бы сказал, что блокада в целом неспецифичная, Но существуют некоторые исключения, когда требуется следить за путями выведения и рецепторами на макрофагах, которые мы блокируем. Вот, конечно, мы проверяем, ну, проводим работу по блокаде, а многие и проверяем их для продления циркуляции и липосом, и полимерных наночастиц, и белков, и вирусов. Ну, эффективность, разумеется, разная. По моему, на вирусах пока что не очень получается. На белках, белки тоже достаточно маленькие агенты. Там эффективность тоже не большая, но на липосомах, полимерных наночастицах достаточно хорошо работает. Спасибо

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, коллеги, значит, по регламенту следующая дискуссия, кто хотел бы выступить? Не вижу.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Никто. Тогда можно я два слова скажу?

**Мирошников А.И., председатель:** Да, пожалуйста.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Я хочу сказать несколько слов в защиту этой работы. Я хочу сказать сразу, что и диссертант, и сама работа мне очень понравилась, вообще говоря, здесь она характерна тем, что здесь есть, где разгуляться рецензенту. Потому что на самом деле, вот если посмотреть, такое огромное количество различных наночастиц, различных покрытий, различных вариантов. И, конечно, очень приятно, что вот чисто, ну, интуиция это вещь такая, очень расплывчатая. На самом деле интуиция, она базируется на опыте, на знаниях. И вот то, что вы сегодня слушали, насколько компетентно нам отвечал на вопросы и вообще демонстрировал свою компетентность, то есть диссертант полностью в теме. И вот это очень импонирует и очень подтверждает. В общем, мне очень понравилось и выступление, и работа. Я, конечно, сам буду голосовать за и всех призываю голосовать за. Спасибо за выступление.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Спасибо и руководителю Сергею Михайловичу и спасибо самому диссертанту.

**Мирошников А.И., председатель:** Так, коллеги. Тогда мы наверно счетную комиссию выберем сейчас. Ну, вот здесь Владимир Александрович договорился уже с Юрием Борисовичем Лебедевым, с Аллой Николаевной Генераловой и Олейниковым. Никто не возражает? Ну, формально давайте проголосуем, кто за? Спасибо. Против Нет, воздержавшихся нет. Так, а проект? Заключение это уже после голосования.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** А еще заключительное слово.

**Мирошников А.И., председатель:** Заключительное слово Азизу. Спасибо.

**Миркасымов А.Б., соискатель:** Да, хочу поблагодарить, конечно, в первую очередь научного руководителя Деева Сергея Михайловича за грамотное руководство, и просто потому, что он хороший человек. Поблагодарить Зелепукина Ивана за неоценимый вклад в работу, Шипунову Викторю За помощь и ценные советы. И, конечно, своих старших коллег и молодое поколение лаборатории, а также своих друзей и семью, которые поддерживали меня все это время. Спасибо.

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, коллеги, что приступим к голосованию.

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Может замечания? По заключению.

**Мирошников А.И., председатель:** Николай Владимирович, замечания есть?

*(Проходит обсуждение проекта заключения совета. Бовин Н.В. предлагает внести небольшие поправки в формулировки в раздел о практическом значении работы. Проходит голосование по проекту заключения. Заключение совета принято единогласно.)*

**Мирошников А.И., председатель:** Пожалуйста, голосуем.

*(Проходит тайное голосование)*

**Мирошников А.И., председатель:** Спасибо. Так, Владимир Александрович

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Ну теперь, значит, результаты счетной комиссии

**Олейников В.А., ученый секретарь:** Да. По диссертации Миркасымова Азиза Бахтияровича. Значит, присутствовало на заседании 21 член диссертационного совета, роздано бюллетеней 21, оказалось в урне 21, за 21, против и недействительных нет.

**Мирошников А.И., председатель:** Поздравляем! Спасибо. Утверждаем? (Утверждаем)

**Олейников В.А., ученый секретарь:** А теперь поздравляем.

**Мирошников А.И., председатель:** А теперь поздравляем. Спасибо вам. Спасибо.

Зам. председателя  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Ефремов Р.Г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

