

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Колевой Ларисы

«Эритроциты-биореакторы для утилизации из кровотока низкомолекулярных метаболитов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

Диссертационная работа Колевой Л. посвящена разработке биосовместимой системы доставки лекарственных соединений в организм человека. Доставка лекарственных соединений является актуальной проблемой современной фармакологии, особенно это актуально для токсичных препаратов и препаратов, которые быстро выводятся иммунной системой организма. Эритроциты – многочисленная популяция клеток крови, особенности физиологии которых позволяют их применять в качестве переносчиков различных лекарственных соединений. В качестве таких соединений в работе используются ферменты – L-аспарагиназа, глутаматдегидрогеназа и аланинаминотрансфераза. Включение данных ферментов в эритроциты автор проводил методом проточного диализа, который оказался более эффективным, чем другие гипосмотические методы. Включение L-аспарагиназы в эритроциты (инкапсуляция) решает существующую в настоящее время проблему ее иммуногенности, а инкапсуляция в эритроциты глутаматдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы открывает новые возможности быстрой утилизации токсичного аммония из кровотока. Обе задачи актуальны для решения современных клинических проблем. Деpletion аспарагина аспарагиназой в кровотоке способствует апоптозу, в первую очередь, опухолевых клеток, которые не способны синтезировать аспарагин самостоятельно, а быстрое расщепление аммония позволяет избежать серьезных фатальных последствий при различных патологических состояниях, сопровождающихся высокой концентрацией аммония в кровотоке. Эритроцит же в этих случаях предотвращает возникновение аллергических реакций на ферментные препараты и обеспечивает пролонгированный терапевтический эффект.

Одним из достоинств работы Колевой Л. является разработка метода инкапсуляции, позволяющего получить загруженные препаратом эритроциты в стерильных условиях и с высоким выходом, что позволяет реальное применение полученных эритроцитов-биореакторов в клинической практике. С помощью этого метода были получены эритроциты с аспарагиназой для стартовых клинических испытаний у пациентов с острым лимфобластным лейкозом. В ходе испытаний была продемонстрирована безопасность данного препарата, а также его пролонгированное действие в кровотоке. Активность аспарагиназы сохранялась в терапевтическом диапазоне в течение по меньшей мере 2 недель, деpletion аспарагина наблюдалась у

обоих пациентов и ее продолжительность зависела от дозы введенной аспарагиназы. Недочетом является очень маленькая выборка пациентов, участвующих в исследовании. Еще одним немаловажным прикладным достоинством работы является создание автоматической установки для получения эритроцитов-носителей лекарственных соединений, в котором участвовал автор диссертации. Полученный патент на установку указывает на ее преимущества по сравнению с существующими аналогами. В работе эти преимущества продемонстрированы на примере включения аспарагиназы в эритроциты.

В диссертационной работе впервые получены эритроциты-биореакторы для переработки аммония (аммоциты), содержащие совместно включенные ферменты – глутаматдегидрогеназу из *Proteus* sp. (перерабатывающую аммоний) и аланинаминотрансферазу (обеспечивающую наличие субстрата для реакции утилизации аммония). Автором была доказана совместная работа двух этих ферментов и показана более длительная, чем для других аммоцитов (более 2 часов) утилизация аммония данными биореакторами *in vitro*. Хотелось бы видеть работоспособность таких биореакторов *in vivo*, для начала на мышах. В отличие от эритроцитов с аспарагиназой, разработанные эритроциты-биореакторы для утилизации аммония находятся пока на стадии лабораторных исследований, однако их применение видится перспективным. Ограничением к их применению в клинике является отсутствие до настоящего времени зарегистрированных эритроцитов-биореакторов с данными ферментными препаратами. Хотя общая ценность работы не вызывает сомнений, есть ряд вопросов для более полного понимания темы:

1). С чем, по мнению автора, связан более низкий процент включения ферментов с использованием метода диализа в мешках по сравнению с проточным диализом?

2). С чем, по мнению автора, связано резкое падение активности аспарагиназы в течение первых 24 часов после введения эритроцитов-биореакторов пациентам?

3). Почему с использованием разработанного автоматического устройства были получены только эритроциты с аспарагиназой, но не с глутаматдегидрогеназой и аланинаминотрансферазой?

4). Хотелось бы оценить максимально возможную скорость утилизации аммония аммоцитами, хотя бы *in vitro*

Основные положения диссертационной работы опубликованы в печатных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также входящих в базы цитирований Web of Science и Scopus, и были доложены на научных форумах международного и российского уровня.

В целом результаты работы, их анализ и выводы актуальны, достоверны и обладают несомненной практической значимостью. По совокупности сведений, приведенных в автореферате данное исследование отвечает требованиям пп. 9 и

14 положения «О порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ N 842 от 24.09.2013 г.; в редакции Постановления Правительства РФ от 18.03.2023 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Л. Колева заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Отзыв составил: доктор биологических наук, профессор
Золотов Николай Николаевич

Адрес: 125315. Москва. Балтийская ул. дом 8
ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В.Закусова»
Тел: +7(910)4066322
e-mail: zolotovnn@gmail.com
Дата 05/05/2023

Подпись доктора биологических наук Золотова Н.Н. заверяю:
Ученый секретарь Института,

Кандидат биологических наук



В.А.Крайнева