

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Проректор – начальник Управления  
научной политики

МГУ имени М.В. Ломоносова

д. физ.-мат. н., профессор

А.А. Федянин

2020 г.



**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию Фахардо Анны Фабиовны «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - «Биохимия»

**1. Актуальность темы исследования**

В настоящее время расширяются биомедицинские применения нанотехнологий. Становятся актуальными вопросы изучения их влияния на организм человека и животных, главным образом, биобезопасность. Общебиологические механизмы взаимодействия наноструктур с физиологическими системами организма и с отдельными клетками требуют детального изучения.

Автор обоснованно выделяет один из аспектов современного состояния проблемы – влияние природы химических соединений, из которых синтезированы наночастицы, а также сложности организации наноструктур, на биохимические процессы и жизнеспособность клеток, подвергающихся воздействию. Автор своевременно отметил назревшую необходимость сделать акцент на изучении наиболее активно используемых для биомедицинских применений наночастиц (НЧ) – металлических.

Адресная доставка лекарственных веществ непосредственно в опухоль или в трансформированную клетку является перспективным направлением терапии онкологических заболеваний. Зачастую используемые комплексы, включающие в себя НЧ и лекарственные препараты, имеют сложный состав и труднопроизводимы в синтезе; кроме того, механизмы взаимодействия целевого вещества с НЧ требуют изучения для каждой конкретной системы. Поэтому по-прежнему актуальной является проблема разработки и исследования новых наноструктур для терапии и диагностики.

Выполненное Фахардо А.Ф. исследование посвящено важной проблеме - разработке подходов для определения метаболической активности клеток млекопитающих в присутствии НЧ и ДНК-наноконструкций, а также оценке их токсичности на уровне организма (на моделях млекопитающих).

## **2. Новизна исследования и полученных результатов**

Соискатель получил ряд результатов, представляющих собой интерес с научной и практической точки зрения. В работе показана возможность использовать описанные подходы для оценки токсичности и влияния на метаболическую активность металлических НЧ и ДНК-наноконструкций.

Исследована цитотоксичность непокрытых НЧ оксидов гафния, железа, циркония, титана, тантала, а также оксигидроксида алюминия, показано отсутствие индукции апоптоза и некроза. Изучена токсичность на модели мышей, показано, что в условиях единообразного синтеза указанных наночастиц, выраженным токсическим действием обладают только НЧ оксида циркония. Особый интерес, несомненно, представляют впервые полученные данные о влиянии новых наноструктур для адресной доставки лекарственных средств, а также наночастиц, имеющих потенциал радиосенсибилизаторов, на метаболическую активность культур клеток. Показано, что НЧ оксида тантала обладают более выраженным эффектом на ингибирование образования колоний клеток после облучения по сравнению с НЧ оксида гафния.

В работе проведен подбор оптимальных параметров трансфекции дезоксирибозимов, а также ДНК-наноконструкций на их основе для клеток эукариот. Впервые показано, что усложнение уровня организации ДНК-наноконструкции не приводит к ухудшению эффективности доставки в клетку и увеличению токсичности.

## **3. Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

В диссертации получены новые данные о закономерностях токсичности и влияния на метаболические процессы клеток различных наноструктур на основе наночастиц оксидов металлов, а также ДНК- наноконструкций. В частности, проведен сравнительный анализ токсичности непокрытых наночастиц, что важно в контексте исследования влияния их химической природы при сходных физических характеристиках. Выявлено отсутствие увеличения токсического действия при усложнении уровня организации

наноструктур. Данные результаты значимы для дальнейшего развития применения нанотехнологий в биомедицине.

Большое значение для практики имеют результаты, полученные при исследовании наночастиц оксидов циркония и гафния в качестве радиосенсибилизаторов. Радиотерапия является одним из традиционно используемых подходов в терапии онкологических заболеваний. Однако, перед клиницистами всегда остро стоит проблема серьезных побочных эффектов, а также возникновения резистентности. В связи с этим очень важна разработка препаратов, позволяющих усилить дозу внутри опухоли, при этом не увеличивая дозу облучения здоровых тканей. Автором получены результаты, доказывающие безопасность наночастиц оксидов гафния и циркония как на уровне целого организма, так и с точки зрения отсутствия цитотоксичности для клеток в отсутствие облучения. Что касается усиления эффекта рентгеновского излучения - показано, что в присутствии наночастиц оксида гафния и тантала клетки образуют меньшее количество колоний. Полученные данные могут служить основанием для дальнейших разработок в данной области.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс при подготовке магистрантов Университета ИТМО, о чем составлен соответствующий акт внедрения. Дальнейшие исследования по тематике работы обладают большими перспективами, так как понимание изменения биохимических процессов в культурах клеток под воздействием наноструктур является основой для их усовершенствования и в конечном итоге создания кандидатов лекарственных препаратов.

#### **4. Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа А.Ф. Фахардо построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, использованных в работе, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста, содержит 31 рисунок и 10 таблиц. Список литературы содержит 199 литературных источников.

Во введении автор аргументирует актуальность проблемы, а также описывает теоретическую и практическую значимость проведенного исследования. Особое внимание уделено существующим подходам к исследованию наноструктур для медицинских применений, проблемам токсичности и эффективности доставки. Цель работы и положения, выносимые на защиту, чётко сформулированы; задачи соответствуют поставленной цели.

В обзоре литературы автор провел анализ 191 современного литературного источника, статей, опубликованных в отечественных и зарубежных журналах. Большинство рассмотренных статей опубликовано в высокорейтинговых международных журналах за последние несколько лет. Обзор достаточно полноценно освещает современное состояние исследований в области применения нанотехнологий для биомедицины. Рассмотрены аспекты применения нанотехнологий в медицине, использование НЧ для тераностики, адресной доставки лекарственных средств, радиосенсибилизации. Также освещены вопросы развития ДНК- и РНК- нанотехнологий для регуляции экспрессии генов, а также проблема доставки подобных конструкций, как один из лимитирующих факторов применения в медицине.

Глава 2 посвящена описанию материалов и методов исследования. Используемые методические приемы даны в достаточном объеме.

Глава 3 описывает результаты собственных исследований, полученные в ходе экспериментальной работы. Материал изложен логично, последовательно, грамотно, выдержан в едином стиле, лаконичен, имеет законченный характер.

По итогам выполненных исследований и критического анализа полученных результатов автор формулирует 7 выводов. Выводы полностью подтверждены приведенными результатами и вытекают из поставленных задач. Положения, выносимые автором на защиту, консолидируют раскрытые в работе закономерности и логично вытекают из выводов. В своей совокупности выводы и положения позволяют считать, что цель, поставленная автором в исследовании, достигнута в полном объеме.

Диссертация является полностью законченным самостоятельным научным трудом.

В целом, диссертационная работа Фахардо А.Ф. характеризуется хорошим научным стилем, грамотностью и ясностью изложения, хорошо иллюстрирована, имеет законченный характер. Защищаемые в работе положения научно обоснованы представленными экспериментальными результатами собственных исследований автора, обладают научной новизной и внутренним единством. Научные выводы, сделанные по результатам работы, корректно обобщают суть полученных результатов.

## **5. Рекомендации по использованию результатов диссертации**

Результаты диссертационного исследования могут быть применены учеными, занимающимися исследованиями в области биохимии, бионанотехнологий, а также осуществляющими разработку наноформулированных лекарственных препаратов.

Отдельно хотелось бы отметить значимость результатов, полученных при исследовании ДНК- наноконструкций. Исходя из материалов, представленных в

диссертации, а также статей диссертанта, опубликованных совместно с соавторами, область представляется крайне перспективной с точки зрения создания «умных» систем, селективно действующих только на клетки, содержащие специфические РНК-последовательности. Данные результаты могут быть использованы для дальнейшей разработки геннотерапевтических лекарственных средств.

Также результаты работы могут быть внедрены в научно-исследовательских и образовательных организациях, занимающихся исследованиями наноформулированных лекарственных препаратов: МГУ имени М.В.Ломоносова (Химический факультет, факультет фундаментальной медицины), Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М.В.Ломоносова), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» и другие профильные учреждения биомедицинских и нанобиотехнологических направлений.

## **6. Степень обоснованности и достоверность научных положений и выводов**

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Грамотно и скрупулезно спланированные экспериментальные исследования полностью вытекают из поставленных задач. В работе использован широкий диапазон экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* с использованием токсикологических, биохимических и молекулярно-биологических методов.

Объем выполненного исследования, выбранные методические подходы, адекватное использование статистических методов и интерпретация данных позволили надежно обосновать основные научные положения. Автор имеет высокую теоретическую подготовку и обладает достаточным уровнем практических навыков экспериментальной работы.

Цели и задачи, поставленные в диссертации, выполнены полностью. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы.

## **7. Замечания и комментарии к работе**

Автору не удалось избежать в работе нескольких опечаток и неточностей. Так, при выделении названия конференций автор использует как кавычки, так и скобки. Графический материал диссертации представлен в разном стиле и цветовых гаммах.

В порядке научной дискуссии требует уточнения следующий вопрос:

В исследовании изучена острая токсичность наночастиц, показавшая довольно высокие значения для доз, не вызывающих гибели животных. Однако большая часть препаратов вводится многократно. Может ли автор сделать предположения об ожидаемой токсичности исследованных наночастиц при многократном ежедневном введении?

Высказанные замечания не снижают общей высокой положительной оценки представленной диссертации.

## **8. Полнота изложения результатов диссертации в научной печати**

Результаты диссертационной работы полноценно изложены в 13 опубликованных печатных работах, в том числе в 12 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах Scopus и Web of science, 1 главе монографии на английском языке, а также в 1 патенте. Требования к опубликованию результатов диссертации в рецензируемых изданиях полностью выполнены. Материалы диссертации были неоднократно представлены автором на конференциях различного уровня. Судя по названиям работ и по тексту основных статей, любезно предоставленных автором для ознакомления, полученные результаты и основные выводы изложены в научных изданиях с исчерпывающей полнотой.

## **Заключение**

Диссертационная работа А.Ф. Фахардо «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур» является законченным научно-квалификационным исследованием, результаты которого могут иметь практическое значение для развития нанотехнологий, в частности адресной доставки лекарственных средств и разработки новых препаратов. Работа выполнена на высоком современном научно-методологическом уровне. По глубине содержания представленных материалов, актуальности, новизне и научно-практической значимости полученных данных, диссертационная работа Фахардо А.Ф. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), а автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Отзыв обсужден и утвержден на межкафедральной конференции кафедры биоинженерии и кафедры клеточной биологии и гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», протокол №1 от «16» ноября 2020 г.

Доктор биологических наук, доцент,  
профессор кафедры клеточной биоинженерии Биологического факультета  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего  
образования «Московский государственный университет  
имени М. В. Ломоносова»



Лобакова Елена Сергеевна

Подпись Е.С. Лобаковой заверяю:

Заместитель декана Биологического факультета по научной работе  
профессор



Рубцов Александр Михайлович.

«4» декабря 2020 г.

Адрес: Биологический факультет Московского государственного университета  
имени М. В. Ломоносова, 119234, Москва Ленинские горы, д.1, стр.12.

Телефон: +7 (495) 939-10-00; e-mail: info@mail.bio.msu.ru