

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.002.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ,  
БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ  
НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 28.12.2020 г. № 3

О присуждении **Фахардо Анне Фабиовне**, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур» по специальности 03.01.04 – «Биохимия» принята к защите 27 октября 2020 г., протокол № 1г диссертационным советом Д 001.002.01 на базе ФГБУН Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14, приказ Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012; № 518/нк от 28.04.2016 (приказ о переименовании).

Соискатель – Фахардо Анна Фабиовна 1991 года рождения. В 2014 году окончила магистратуру Санкт-Петербургского Государственного Политехнического университета по специальности «Техническая физика», направление образовательной программы «Физико-химические основы создания новых материалов и технологий в медицине и биотехнологии». В 2020 году окончила аспирантуру по специальности 03.01.04 – «Биохимия» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики (ИТМО)» (Университета ИТМО) по направлению «Биологические науки», по итогам которой ей была присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». В настоящее время продолжает работу в Химико-биологическом кластере Университета ИТМО в должности научного сотрудника.

Диссертация выполнена в Химико-биологическом кластере Университета ИТМО.

**Научный руководитель:**

Виноградов Владимир Валентинович – доктор химических наук, заведующий лабораторией "Растворная химия передовых материалов и технологий", доцент химико-биологического кластера Университета ИТМО.

**Научный консультант:**

Штиль Александр Альбертович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России.

**Официальные оппоненты:**

Шаройко Владимир Владимирович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник межкафедральной лаборатории биомедицинской химии Института химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ),

Гусев Александр Анатольевич – доктор биологических наук, доцент, директор НИИ экологии и биотехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина» (ТГУ имени Г.Р. Державина).

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» в своём положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, доцентом, Лобаковой Еленой Сергеевной, указала, что диссертационная работа А.Ф. Фахардо «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия», является законченным научным трудом, 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. Исследование 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».

По теме диссертации опубликованы 13 работ общим объемом 15,423 печ. л., 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.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Vasilichin V.A., Tsymbal S.A., Fakhardo A.F., Anastasova E.I., Marchenko A.S., Shtil A.A., Vinogradov V.V., Koshel E.I. Effects of Metal Oxide Nanoparticles on Toll-Like Receptor mRNAs in Human Monocytes// Nanomaterials – 2020. – Т. 10. – №. 1. – С. 127 (1,102 печ. л.).

2. Fakhardo A.F., Anastasova E.I., Gabdullina S.R., Soloveva A.S., Saparova V.B., Chrishtop V. V., Koshevaya E.D., Krivoshapkina E.F., Krivoshapkin P.V., Kiselev G.O., Kalikina P.A., Koshel E. I., Shtil A. A., Vinogradov V.V. Toxicity Patterns of Clinically Relevant Metal Oxide Nanoparticles// ACS Applied Bio Materials – 2019. – Т. 2. – №. 10. – С. 4427-4435 (1,181 печ. л.).

3. Nedorezova D. D., Fakhardo A. F., Nemirich D. V., Bryushkova E. A., Kolpashchikov D. M. Towards DNA Nanomachines for Cancer Treatment: Achieving Selective and Efficient Cleavage of Folded RNA// Angewandte Chemie – 2019. – Т. 58. – №. 14. – С. 4654-4658 (0.573 печ. л.).

**На автореферат поступило 3 отзыва:**

- Носова Андрея Викторовича, д.м.н., доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства";

- Семенова Константина Николаевича, д.х.н., заведующего кафедрой общей и биорганической химии, заведующего лабораторией биомедицинского материаловедения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

- Бродской Александры Валерьевны, к.б.н., младшего научного сотрудника лаборатории внутриклеточного сигналинга и транспорта федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-

исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзыве Носова Андрея Викторовича содержатся вопросы о влиянии наночастиц на проницаемость гематоэнцефалического барьера, а в отзыве Семенова Константина Николаевича – о механизмах токсического действия наночастиц и влиянии облучения на пролиферацию клеток.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются ведущими специалистами, имеющими публикации в области биохимии.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований** показано, что метаболическая активность культивируемых клеток, определяемая по активности дегидрогеназ, не подавляется при воздействии наночастиц (НЧ) оксидов металлов  $TiO_2$ ,  $HfO_2$ ,  $Ta_2O_5$ ,  $Fe_3O_4$  с немодифицированной поверхностью; также они не оказывают токсического действия на организм мыши в концентрациях, позволяющих получить биосовместимую суспензию. НЧ  $ZrO_2$  проявляют токсичность для мышей в высоких дозах (ЛД<sub>50</sub> 2277,8 мг/кг) из-за повреждений миокарда, развития отека легких и гипоксии головного мозга.

Отмечено, что экспрессия гена, кодирующего рецептор врожденного иммунитета TLR-6 в клетках линии ТНР-1, регулируется воздействием НЧ  $Fe_3O_4$ ,  $AlOOH$ ,  $TiO_2$  – исследованные концентрации вызывают статистически значимое увеличение экспрессии в 1,4-1,6 раза. НЧ  $AlOOH$  также индуцируют экспрессию TLR-4 (увеличение в 1,5 раза по сравнению с контролем).

Доказано, что модификации НЧ магнетита – гель магнетита и магнетитовые наноконтейнеры – не вызывают выраженной токсичности по сравнению с немодифицированными НЧ магнетита, что свидетельствует об их применимости в качестве биосовместимых носителей для доставки лекарств.

Отмечено, что метаболическая активность культур клеток статистически значимо сильнее угнетается НЧ  $AlOOH$  по сравнению с алюминиевыми ксерогелевыми наноконтейнерами (АКН). На модели родамин@АКН показано, что последние могут проникать в клетки, что перспективно для разработки вакцин, упакованных в адьювантный наноматериал.

Доказано, что метаболическая активность клеток не претерпевает значительных изменений при воздействии немодифицированных и

допированных НЧ оксида гафния ( $<0,5$  мг/мл). Допированные Eu и Lu НЧ  $\text{HfO}_2$  меньше влияют на метаболическую активность по сравнению с недопированными НЧ. Допирование НЧ  $\text{ZrO}_2$  тербием и иттербием не увеличивает их цитотоксичность.

Показано, что ДНК-наноконструкции на основе дезоксирибозимов доставляются в клетки человека в культуре и практически нетоксичны. Усложнение организации и увеличение количества нуклеотидов в конструкции не ухудшают доставку и не увеличивают токсичность, что важно для развития терапевтических ДНК-нанотехнологий.

**Теоретическая значимость диссертационной работы обоснована тем, что**

в диссертационной работе впервые проведена сравнительная оценка токсичности в системах *in vitro* и *in vivo* непокрытых НЧ оксидов металлов, перспективных для биомедицинских исследований. Эти исследования создают фундаментальные представления о применении их производных в качестве носителей лекарств или фармакологических субстанций. Результаты оценки влияния НЧ оксидов гафния и циркония, допированных редкоземельными ионами, на метаболическую активность клеток, будут использованы для разработки противоопухолевых радиосенсибилизаторов.

Впервые проведена оценка эффективности внутриклеточной доставки, стабильности и токсичности ДНК-наноструктур различной сложности, что является важным для их использования в медицинских ДНК-нанотехнологиях.

Получены новые фундаментальные данные о регуляции жизнеспособности, а также отдельных биохимических процессов на клеточном и организменном уровнях при действии различных нанобиоматериалов.

**Значение полученных автором результатов диссертационной работы для практики подтверждается тем, что по результатам экспериментальных исследований была опубликована глава в монографии на английском языке, получен патент РФ на изобретение. Результаты исследования внедрены в научную и педагогическую деятельность федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», о чём был составлен соответствующий акт внедрения.**

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что** в ходе экспериментов использовались современные средства и методики проведения исследования, адекватные его цели и задачам. Работа выполнена с помощью поверенных средств измерений. В обзоре, предпосланном научному исследованию, проанализировано 199 источника литературы, в том числе 4 российских и 195 зарубежных. В ходе работы получен значительный объем экспериментальных данных. Все результаты были подвергнуты необходимой статистической обработке с использованием программ Microsoft Office Excel 2016 с надстройкой Attestat, Statistica 6.0. Во всех случаях размер выборок был достаточен для проведения корректного статистического анализа. Сформулированные выводы основываются не только на данных, непосредственно полученных автором диссертации, но и на известных достижениях фундаментальных и прикладных научных дисциплин, связанных с предметом исследования.

**Личный вклад соискателя** заключался в проведении анализа литературных источников, создании дизайна экспериментов, описанных в диссертации. Все изложенные в работе результаты, описанные на моделях культур клеток и *in vivo*, получены автором самостоятельно или при его непосредственном участии. Данные по физико-химическим характеристикам наночастиц и исследованию их влияния на конъюгативный перенос плазмид мультирезистентности получены совместно с соавторами статей, опубликованных по теме работы. Результаты исследований и сделанные по ним выводы были подвергнуты статистической обработке, оформлению и описанию автором лично и обсуждены с научными руководителями и соавторами статей при подготовке публикаций.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается последовательным выполнением плана исследований, использованием соответствующей задачам методической платформы, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертация Фахардо Анны Фабиовны «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур» соответствует требованиям п. 9 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения учёных степеней» № 842 от 24.09.2013 в действующей редакции, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор достоин присуждения искомой степени по специальности 03.01.04. – «Биохимия». В диссертации

отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 28.12.2020 г. Диссертационный совет принял решение присудить Фахардо А.Ф. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 5 докторов биологических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 32 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 22, против – нет, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель  
диссертационного совета

Учёный секретарь  
диссертационного совета

28.12.2020 г.



Никитюк Дмитрий Борисович

Шилина Наталия Михайловна