

ОТЗЫВ

официального оппонента Шаройко Владимира Владимировича, PhD, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника межкафедральной лаборатории биомедицинской химии Института химии ФГБОУ ВО «СПбГУ» на диссертационную работу **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

Диссертационная работа, выполненная Фахардо Анной Фабиовной, представляет собой последовательное и глубокое исследование в области биологической химии, полностью соответствующее паспорту специальности 03.01.04 в части (1) проблемы строения, свойств и функционирования отдельных молекул и надмолекулярных комплексов в биологических объектах, изучение молекулярной организации структурных компонентов, выяснение путей метаболизма и их взаимосвязей, (2) анализ и синтез биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства, (3) молекулярные основы превращений искусственных материалов под влиянием живых организмов и (4) исследования молекулярных механизмов реагирования клеточных компонентов и живых организмов на ионизирующее излучение, химические, токсические и другие экстремальные воздействия. Изучение роли активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления и свободнорадикальных продуктов в нарушениях и регулировании метаболических процессов в биосистемах.

Актуальность темы исследования. Диссертационное исследование А.Ф. Фахардо посвящено актуальной проблеме, а именно изучению

молекулярно-клеточных механизмов действия новых наноструктур на основе наночастиц оксидов металлов и ДНК на клетки млекопитающих. Использование наноструктур в медицинских целях предъявляет высокие требования к их контролируемому и воспроизводимому синтезу, составу, биосовместимости, токсичности и эффективности доставки в ткани-мишени. По этой причине на фармацевтическом рынке представлено достаточно мало препаратов на основе наноструктур. Методология комплексного изучения биологических эффектов наноструктур и их молекулярно-клеточных механизмов действия требует дальнейшего усовершенствования. В этом контексте, безусловно, актуальность темы исследований А.Ф. Фахардо не вызывает сомнений. Более того, тема диссертации отвечает приоритетному направлению развития науки, технологий и техники в РФ «Индустрия наносистем», а также соответствует направлению «Технологии получения и обработки функциональных наноматериалов» из Перечня критических технологий Российской Федерации.

Новизна исследования. В исследовании А.Ф. Фахардо получены новые знания, которые расширяют наши представления об *in vivo* и *in vitro* биологических эффектах и механизмах действия новых наноматериалов. В частности, впервые была проведена сравнительная оценка метаболической активности клеток млекопитающих в присутствии наночастиц, предназначенных для клинического применения, а также оценка их токсичности на уровне организма. Было показано, что наночастицы на основе оксидов железа, титана и тантала не вызывают значимых изменений метаболической активности клеток в концентрациях, позволяющих сохранить стабильность зольей, не индуцируют гибель клеток и не вызывают симптомы токсичности у мышей при внутрижелудочном введении дозы 3 г/кг. Автором впервые охарактеризовано влияние новых наночастиц для адресной доставки лекарств, а также радиосенсибилизаторов, на метаболическую активность клеток. Было проведено комплексное изучение

эффективности доставки и токсичности ДНК-наноконструкций различной степени сложности. Был сделан важный вывод о том, что усложнение организации ДНК-наноконструкции не ухудшает эффективность ее доставки в клетку и не увеличивает цитотоксичность.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Разработанные в рамках диссертационных исследований материалы имеют большой потенциал использования в медицине: для разработки противоопухолевых радиосенсибилизаторов, использование непокрытых наночастиц оксидов металлов в качестве носителей лекарств или фармакологических субстанций, для внутриклеточной доставки ДНК-наноструктур различной степени сложности. Комплексная методология для оценки взаимодействия наноструктурированных материалов с клетками и их влияния на метаболическую активность и выживаемость с использованием цитологических, биохимических и молекулярно-биологических методов может быть полезна для биотестирования новых наноматериалов медицинского назначения.

Отдельно следует отметить, что А.Ф. Фахардо в соавторстве был получен патент на изобретение, посвящённый способу получения урокиназы, энтрапированной в коллоидный магнитный керамический нанокомпозитный материал.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертация А.Ф. Фахардо написана на актуальную тему хорошим научным языком. Методическую и экспериментальную часть предваряет подробный литературный обзор, в котором достаточно полно рассмотрено современное состояние проблемы, что, в свою очередь, позволяет автору грамотно поставить цель и задачи исследования. Несомненным достоинством работы является использование широкого

арсенала методов биохимии, молекулярной и клеточной биологии. В целом, рассматриваемая диссертация является законченным исследованием, отличающимся новизной, имеющим научную и практическую значимость. Результаты диссертации достоверны, а выводы научно обоснованы.

Структура диссертационного исследования

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, использованных в работе, описания результатов исследования, заключения, обсуждения полученных результатов, списка обозначений и сокращений, а также списка использованных источников. Текст диссертации изложен на 122 печатных страницах, проиллюстрирован 31 рисунком, 10 таблицами. Список литературы содержит 199 литературных источников.

Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах. Результаты диссертационного исследования достаточно полно апробированы, что подтверждается их публикацией в виде 12 научных статей в высокорейтинговых журналах, индексируемых в базах Scopus и Web of Science, 1 главе монографии и 1 патенте РФ, а также докладами на 7 всероссийских и международных научных конференциях. Автореферат диссертации полностью передает её содержание.

Замечания и вопросы по диссертации. В целом работа производит положительное впечатление. По существу диссертации возникли следующие вопросы и замечания.

1. Каковы дальнейшие перспективы использования ДНК-наноструктур? В чем преимущества использования дезоксирибозима, присоединенного к ДНК-наноконструкции по сравнению с немодифицированным дезоксирибозимом с точки зрения функциональности системы?

2. Возможно ли использование радиосенсибилизаторов на основе наночастиц оксидов металлов в сочетании с химиотерапией для усиления терапевтического эффекта?

3. Может ли автор предположить, используя данные литературы, или собственный опыт, каковы будут основные мишени накопления наночастиц в организме и каков их период выведения?

4. Каковы могут быть эффекты изучаемых наноструктур на ферментные системы антиоксидантно-прооксидантного гомеостаза (микросомальные монооксигеназы, NO-синтаза, НАДФ-оксидаза, ксантиноксидоредуктаза, СОД, каталаза, глутатионпероксидаза) клеток?

Замечания. В оглавлении диссертации Глава 2 «Материалы и методы» не содержит нумерации и названия подглав, соответствующих материалам и методам. В цитировании литературы упоминается 199 литературных источников, но среди них только 4 российских. В диссертации нет унификации дизайна графиков и некоторые рисунки представлены с низким разрешением.

Перечисленные выше вопросы и замечания не влияют на основные выводы и положения диссертации А.Ф. Фахардо.

Заключение о соответствии диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней. На основании вышеизложенного, считаю, что диссертационная работа Фахардо Анны Фабиовны на тему «Регуляция жизнеспособности клеток млекопитающих в условиях воздействия наноструктур», выполненная под руководством доктора химических наук Виноградова Владимира Валентиновича и при научном консультировании доктора медицинских наук Штиля Александра Альбертовича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены результаты фундаментально-прикладных исследований, имеющих значение для развития биохимии, клеточной

биологии, нанотехнологии, фармацевтики и медицины. Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Фахардо Анна Фабиовна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04- биохимия.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, PhD,
ведущий научный сотрудник межкафедральной
лаборатории биомедицинской химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Санкт-Петербургский
государственный университет»,
профессор кафедры общей и биоорганической химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова»

Шаройко Владимир
Владимирович

Адрес: 198504, Санкт-Петербург, Петергоф, Университетский проспект,
дом 26. Институт химии СПбГУ

<http://chem.spbu.ru/>

Тел.: +7 981 936 41 51

e-mail: sharoyko@gmail.com, v.sharoyko@spbu.ru

01.12.2020

Подпись д.б.н., В.В. Шаройко удостоверяю: *В.В. Шаройко* *01.12.2020*

Копия



Документ подготовлен
в порядке исполнения
трудовых обязанностей