

«УТВЕРЖДАЮ»

**Проректор по научной работе
и цифровому развитию
ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г.
Чернышевского»,
доктор физико-математических наук,
профессор
Алексей Александрович Короновский**



«05» 12 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» на диссертацию Пшеничникова Станислава Евгеньевича «Применение наночастиц оксидов железа для индукции процессов регулируемой клеточной смерти» (г. Калининград, 2024. – 116 с.), представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. - Биотехнология (биологические науки)

Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки и практической деятельности

Связь биотехнологии, материаловедения, медицины и клеточных технологий показывает высокую востребованность тематики по управлению различными клеточными процессами посредством настраивания параметров систем с обратной связью, которые могут быть реализованы через новые виды материалов. Отметим несколько важных взаимосвязанных цепочек, которые удалось автору диссертации представить при обсуждении актуальности исследования. Первое, разработка новых видов материалов и модернизация их свойств происходит под запросы общества, а именно с точки зрения биотехнологического и медицинского аспектов. Второе, показаны точки роста и потенциальные сферы применения результатов исследования с точки зрения биологического приложения наночастиц оксида железа, как наиболее востребованных в последнее время объектов-носителей лекарств. Третье, показана исключительная роль бионанотехнологии в увеличении спектров применения новых видов материалов с управляемыми

свойствами. Показанные последовательности между разными отраслями науки определяют существенную роль в дальнейшем практическом применении результатов исследования.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Впервые проведен комплексный анализ зависимостей формы и размеров наночастиц оксида железа на биохимические процессы в 4 клеточных линиях человека *in vitro*. Показан механизм индуцирования апоптоза и аутофагии с помощью наночастиц оксида железа в клетках, а также показаны условия для изменения течения данных процессов. Показано индуцирующее оксидативный стресс действие наночастиц магнетита, но при этом не вызывающее ингибирование клеток на клеточных линиях

Практическая значимость

Даны широкие сведения о клеточном ответе на воздействие магнитных наночастиц.

Получены новые и расширены существующие знания о взаимодействии наночастиц оксида железа, в частности наночастицы магнетита, нанокубы и нанокластеры с биологическими структурами на примере серии различных культур клеток человека.

В работе получены комплексные данные о характере индуцируемых наночастицами оксида железа клеточных процессов.

Детально изучен и подтверждён механизм пермеабилзации лизосомальных мембран, вызванный влиянием нанокубов и нанокластеров.

Продemonстрировано влияние генетических особенностей клеточной культуры НерG2, на вид клеточного ответа, после воздействия наночастиц.

Продemonстрирована индукция цитотоксических процессов и усиление пермеабилзации наночастиц внутрь клеток при приложении магнитных полей.

Оценка содержания работы, ее завершенность

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит 30 рисунков. Структура диссертации включает список сокращений, введение, обзор литературы, объектов и методов исследования, результаты и обсуждение, выводы и список литературы, состоящий из 201 наименования, в том числе 195 на иностранном языке.

Во введении описана актуальность исследования биотехнологических аспектов во время отклика клеток человека *in vitro* на воздействие

наночастицами магнетита различной формы и размера с точки зрения практического применения в медицине и биоинженерии.

В первой главе описаны особенности наночастиц, как отдельного класса наноматериалов. Рассмотрены возможности применения наночастиц, как инструмента биотехнологии и биомедицины, с точки зрения специфики их взаимодействия с клеточными структурами. Выявлены основные преимущества и недостатки использования наночастиц оксидов железа в качестве терапевтического инструмента. В отдельном разделе рассмотрены основные варианты клеточной смерти, выделяемые согласно Номенклатурному комитету по клеточной смерти (the Nomenclature Committee on Cell Death, NCDD). Подробно описаны процессы регулируемой и программируемой клеточной смерти. Обсуждена связь различных форм регулируемой клеточной смерти. Описаны возможности индукции процессов клеточной смерти с применением наночастиц оксидов железа.

Во второй главе подробно описана методика проведения исследований, посвященных теме диссертации. Представлена информация об основных объектах исследования – клеточных линиях и наночастицах. Представлены методы культивирования и оценки клеточной жизнеспособности клеточных культур. Описан протокол культивирования клеток при приложении внешних магнитных полей и при добавлении наночастиц различных концентраций в питательную среду. Показаны методики оценки образования активных форм кислорода, жизнеспособности и клеточной гранулярности с использованием методов проточной цитометрии. Подробно расписаны методы выявления признаков апоптотических изменений в клетках с использованием конфокальной микроскопии. Представлен протокол вестерн-блота, посвященный идентификации белков-маркеров клеточной смерти.

В третьей главе представлены результаты исследований и подробно проведен анализ и обсуждение полученных данных. В главе выделено три раздела.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и предложений, полученных в ходе диссертационного исследования, подтверждается использованием современных методов, протоколов и подходов при проведении экспериментальной части работ, проведением расширенного критико-аналитического обзора литературы и получаемых выводов и защищаемых положений, большим объемом экспериментальных данных, согласованностью результатов экспериментов с теоретическими моделями обоснования получаемого результата.

Отдельно хочется отметить большой вклад **автора и руководителя** при подготовке диссертации, а также за высокий уровень опубликованных работ по теме диссертации.

Автореферат диссертации и публикации соискателя полностью отражают содержание диссертации. Диссертация и автореферат по структуре и оформлению соответствуют критериям пп. 9-11, 13, 14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

Замечания по тексту диссертации имеют лишь рекомендательный и дискуссионный характер. Весь основной понятийный аппарат применен верно, заключения, выводы и основные положения сформулированы четко и ясно, а также не идут в разрез с получаемыми экспериментальными и теоретическими данными. Перечислим имеющиеся уточнения:

1. клеточная смерть – термин, который применяется достаточно узким кругом исследователей. Прокомментируйте, почему был выбран именно такой термин, а не «клеточная гибель».

2. В ходе описания влияния железа и наночастиц железа не было разграничения на гемовое и негемовое железо при обсуждении процессов окисления. Просим дать устный комментарий относительно того, какой тип железа участвует в реакции Фентона.

3. В эксперименте на рис. 2 вы представляете достаточно необычную систему раскапывания планшета, а именно – пропущены столбцы 3 и 10. С чем это связано?

4. В выводах 2 и 3 как концентрация железа коррелирует с концентрацией железа у здорового человека? Можем ли мы проводить корреляции относительно внедренных наночастиц железа и имеющимися в норме железом в организм?

Заключение

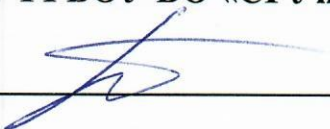
На основании вышеприведенного можно заключить, что диссертация Пшеничникова Станислава Евгеньевича «Применение наночастиц оксидов железа для индукции процессов регулируемой клеточной смерти» (г. Калининград, 2024. – 116 с.) удовлетворяет критериям пп. 9-11, 13, 14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. - Биотехнология (биологические науки).

Отзыв составлен кандидатом физико-математических наук, доцентом кафедры материаловедения, технологии и управления качеством Института физики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» Ломовой Марией Владимировной.

Отзыв на диссертацию заслушан и утвержден на научном семинаре Научного медицинского центра ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» (протокол № 10 от 3 декабря 2024 г.).

**Руководитель Научного медицинского центра ФГБОУ ВО
«СГУ имени Н.Г. Чернышевского»,
Член-корреспондент Российской академии наук,
доктор физико-математических наук, профессор,
заведующий кафедрой оптики и биофотоники Института
физики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»**


_____ **Валерий Викторович Тучин**

«04» декабря 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»). Почтовый адрес: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83. Тел.: +7 (8452) 26-16-96. Факс: +7 (8452) 27-85-29. Адрес электронной почты ректора: rector@sgu.ru. Адрес сайта в сети Интернет: <https://www.sgu.ru>.
Информация о Научном медицинском центре ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского». Почтовый адрес: 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д.112А. Тел.: +7(995)127-25-71. Адрес электронной почты: medcentre@sgu.ru.

