

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.004.01 НА БАЗЕ  
ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ  
ЧЕЛОВЕКА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело №

Решение диссертационного совета от 24 декабря 2015 г. № 18

О присуждении Шубенкову Александру Николаевичу, гражданину Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эффекты модифицированных наночастиц кремния на культивируемые иммунокомпетентные и мезенхимальные стромальные клетки человека» по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 22 октября 2015 года, протокол № 15 диссертационным советом Д 001.004.01 на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418 г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3), сайт [www.morfolhum.ru](http://www.morfolhum.ru), созданным в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Шубенков Александр Николаевич 1989 года рождения. В 2011 году окончил Рязанский государственный агротехнологический университет и поступил в аспирантуру в ФГБУН Государственного научного центра РФ – Института медико-биологических проблем РАН, которую окончил в 2014 году. Работает младшим научным сотрудником в ФГБУН Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН.

Диссертация выполнена на базе лаборатории клеточной физиологии ФГБУН Государственного научного центра РФ – Института медико-биологических проблем РАН. Научный руководитель – Буравкова Людмила Борисовна доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,

зав. лабораторией клеточной физиологии ФГБУН Государственного научного центра РФ – Института медико-биологических проблем РАН. Официальные оппоненты: 1. Плотников Егор Юрьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории структуры и функции митохондрий Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, 2. Воротеляк Екатерина Андреевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории проблем клеточной пролиферации Федерального государственного бюджетного учреждения науки института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация ФГУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН г. Пущино в своем положительном заключении, подписанном зав. лабораторией клеточно-тканевых механизмов компенсации функций биообъектов ФГУН Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, доктором биологических наук Куликовым Александром Владимировичем и ведущим научным сотрудником лаборатории клеточно-тканевых механизмов компенсации функций биообъектов ФГУН Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН кандидатом биологических наук Павликом Л.Л. указано, что диссертация Шубенкова А.Н. соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а её автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук. Соискатель имеет 7 опубликованных научных работ, в том числе 7 - по теме диссертации, 3 из них опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 4 – в материалах научных конференций. Все публикации написаны

в соавторстве, в 4-х из них соискатель является первым автором, общий объем публикаций 26 страниц.

Наиболее значимые работы:

1. Изучение цитотоксических свойств наночастиц кристаллического кремния *in vitro*/ Шубенков А. Н. [и др.] // Биофизика. - 2014. – Т. 59. - вып. 1, - С. 134-139.

2. Модификация поверхности наночастиц кремния серебром или золотом снижает их биосовместимость *in vitro*/ Шубенков А. Н. [и др.] // Цитология -2014. – Т. 56. - №7. – С. 511-515.

3. Mechanical characteristics of mesenchymal stem cells under impact of silica-based nanoparticles/ Ogneva I.V. [и др.] // Nanoscale Research Letters – 2014. Vol.9. - №1. - P. 284-294

На диссертацию и автореферат поступили отзывы: 1. От доктора медицинских наук, профессора, руководителя лаборатории клеточной адгезии НИИ экспериментальной кардиологии РКНПК Минздрава России Мазурова Алексея Владимировича, 2. Кандидата медицинских наук, врача лаборатории клеточных технологий центра биомедицинских технологий ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» Гринаковской Ольги Сергеевны.

Отзывы положительные, критических замечаний в отзывах по представленной работе нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на достаточном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи.

**Выбор** Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН в качестве ведущей организации обусловлен тем, что сотрудниками института в течение многих лет проводятся исследования в области изучения свойств и влияния различных наночастиц на функцию и структуру клеток.

Выбор оппонентов: 1. Плотников Егор Юрьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории структуры и функции митохондрий Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ является автором научных публикаций, посвященных изучению морфо-функциональных особенностей мезенхимальных стромальных клеток в культуре *in vitro* при различных воздействиях, в том числе при взаимодействии с наночастицами. 2. Воротеляк Екатерина Андреевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории проблем клеточной пролиферации Федерального государственного бюджетного учреждения науки института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН является одним из ведущих специалистов в области изучения влияния различных факторов на структуру и функцию клеток в культуре *in vitro*.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** новая научная идея, обогащающая научную концепцию о взаимодействия наноматериалов с иммунокомпетентными и стромальными клетками; **доказана** перспективность дальнейших исследований в области практического применения модифицированных кремниевых наночастиц в биотехнологии и медицине, обусловленная их биомодулирующей активностью и отсутствием цитотоксичности; **введены** новые представления о влиянии наночастиц кремния на структурно-функциональное состояние клеток в зависимости от характера модификации наночастиц и типа клеток.

**Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что доказаны следующие положения,** вносящие вклад в расширение представлений об эффектах взаимодействия наночастиц на основе кремния с иммунокомпетентными и стромальными клетками человека: эффект воздействия наночастиц кремния зависит от характера модификации и типа клеток; модификация кремниевых наночастиц влияет на такие клеточные параметры как жизнеспособность, уровень продукции активных форм

кислорода, состояние лизосомального и митохондриального компартментов, актинового цитоскелета, продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками; **показано**, что инкубация мезенхимальных стромальных клеток с наночастицами Si и Si/B приводит к увеличению жесткости их кортикального цитоскелета и снижению содержания F-актина; **установлено**, что модифицированные благородными металлами наночастицы кремния способны активировать иммунокомпетентные клетки, вызывая увеличение доли лимфоцитов, несущих маркеры активации (CD-25, HLA-DR), и стимуляцию продукции провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1- $\beta$ , IL-6 и противовоспалительного IL-10.

**Применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс существующих базовых методов** исследования *in vitro* эффектов наночастиц с использованием двух типов клеток (мононуклеарные клетки периферической крови человека и стромальные клетки человека), включающие цитофлуориметрический, иммунохимический, микроскопический, статистический. Проведена статистическая обработка полученных численных данных; **изложены** доказательства того, что все исследованные наночастицы (Si, Si/B, Si/Pd, Si/Au, Si/Ag и SiO<sub>2</sub>), при их взаимодействии с несколькими типами культивируемых *in vitro* клеток человека (мезенхимальные стромальные клетки, мононуклеары, фибробласты) в течение 24-48 ч *in vitro* оказывали воздействие на функциональные характеристики культивируемых клеток. **Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждается тем, что: **доказана** возможность исследования *in vitro* влияния модификаций наночастиц на их биомодулирующие свойства. **Показано**, что все исследованные наночастицы не влияют на жизнеспособность клеток в использованных клеточных моделях *in vitro*, при этом наиболее биосовместимы немодифицированные наночастицы кремния. Проведенные исследования доказывают высокую биосовместимость наночастиц чистого кремния, возможность изменения их биологических

эффектов при модификации и необходимость тестирования их цитотоксичности.. Используемый подход дает возможность проводить скрининг и оценку цитотоксических свойств наноматериалов; экспериментальные модели *in vitro* позволяют оценить состояние основных параметров жизнедеятельности на клеточном и субклеточном уровне. Выявленную способность наночастиц активировать иммунные клетки необходимо учитывать при разработке подходов для использования в клинике.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:** результаты получены на сертифицированном оборудовании для культивирования клеток и с использованием современного аналитического оборудования - атомный силовой микроскоп Solver P47-Pro (NT-MDT, Россия), конфокальный микроскоп LSM 780 (Zeiss, Германия), световой фазово-контрастный инвертированный микроскоп Leica DM IL (Leica, Германия), вортекс (Elmi, Латвия), проточный цитофлуориметр Coulter Epics XL (Beckman Coulter, США).

**Теоретическое обоснование** исследования построено на известных данных о том, что клеточные культуры представляют собой адекватную систему для тестирования биосовместимости получаемых искусственным путем наночастиц, а исследованные в работе кремниевые наночастицы могут быть использованы в области биотехнологии и медицины как флуоресцентные зонды, средства для целенаправленной доставки лекарств, а также перспективны для ряда других применений.

**Идея исследования базируется** на анализе данных литературных источников об использовании культур клеток для оценки цитотоксичности различных наноматериалов и биосовместимости кремниевых наночастиц, противоречивости данных о влиянии наноматериалов (в том числе кремниевых наночастиц) на организм, ткани и клетки.

**Использовано сравнение** собственных результатов и данных, полученных ранее другими авторами по тематике, посвященной

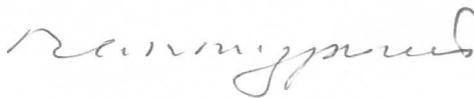
исследованию реакции клеток при взаимодействии с наночастицами кремния, различающихся по морфологической структуре, размеру и наличию поверхностных модификаций. Изучен подход других исследователей к выбору параметров состояния клеток при оценке воздействия наночастиц, а также клетки какого типа следует использовать при оценке цитотоксических свойств наночастиц. **Установлено совпадение части полученных результатов** с данными, представленными в независимых источниках по данной тематике, в частности о том, что наночастицы стимулируют повышение уровня активных форм кислорода в клетках. Используются представительные выборки наблюдений, а также современные методики сбора и обработки информации для анализа полученных результатов.

**Личный вклад соискателя состоит** в планировании исследования, анализе научной литературы, подготовке биологического материала к исследованиям и проведении экспериментов, статистическом анализе полученных данных, обработке и интерпретации результатов, а также подготовке публикаций по выполненной работе.

На заседании 24 декабря 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Шубенкову Александру Николаевичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за -17, против -1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01

Член-корр. РАН



Л.В. Кактурский

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01

д.м.н.



Л.П. Михайлова

«25» декабря 2015 г.