

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050  
Телефон (3822) 53 04 23;  
Факс (3822) 53 33 09  
e-mail: office@ssmu.ru  
http://www.ssmu.ru

ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251  
ИНН 7018013613 КПП 701701001

04.02.2020 № 2  
На № 02/276 от 22.10.2019

УТВЕРЖДАЮ

Ректор

д-р мед. наук, профессор

О.С. Кобякова



## ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической значимости диссертации  
Шарафутдиновой Люции Ахтямовны «Морфофункциональные изменения  
нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии  
наноразмерного диоксида титана в форме рутила (экспериментальное  
исследование)», представленную к защите на соискание ученой степени  
доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная  
биология, цитология, гистология

### Актуальность темы выполненной работы

В последние десятилетия отмечается существенный рост использования наноразмерных материалов в промышленности, научных исследованиях, медицине и др. Совокупное производство металлических наноматериалов в мире к 2020 г. достигнет 1665 тонн/год (Sundarraaj K., 2017). Широкое внедрение нанотехнологий в различные сферы деятельности человека неизбежно ведёт к увеличению частоты контактов между наноматериалами и организмом. Несмотря на значительное распространение и активное

изучение наночастиц диоксида титана, их безопасность является дискуссионной. Перспектива биомедицинского применения наночастиц диоксида титана диктует необходимость комплексного изучения их влияния на организм и внутренние органы.

Актуальность работы Л.А. Шарафутдиновой обусловлена тем, что в научной литературе последних лет большое внимание уделяется рассмотрению вопросов, связанных с биомедицинским применением наночастиц диоксида титана (например, фотодинамическая терапия). Биологическое и медицинское использование наночастиц диоксида титана требует их высокой биодоступности, биосовместимости, низкой токсичности, а также определения влияния на системы органов, органы и ткани организма человека и экспериментальных животных. Биосовместимость наночастиц диоксида титана нуждается в тщательном и всестороннем исследовании, которое должно предшествовать их использованию в диагностических и терапевтических целях.

Диссертационная работа Л.А. Шарафутдиновой, цель которой – описать морфофункциональное состояние органов иммунной, нервной и половой систем крысы после перорального и интраназального введения наночастиц диоксида титана, посвящена изучению структуры тимуса, селезёнки, шейных лимфатических узлов, печени, головного мозга и семенников крыс, а также исследованию эмбриотоксичности наночастиц диоксида титана и их влияния на поведение животных. Особенно актуальным представляется изучение эмбриотоксичности наночастиц диоксида титана в антенатальном и постнатальном периодах развития.

Рассматриваемая в работе проблема взаимодействия наночастиц диоксида титана с организмом сохранит свою актуальность и в ближайшем будущем в связи с высокими темпами развития нанотехнологии и роста производства продуктов, содержащих наноматериалы.

**Связь темы исследования с планами соответствующих отраслей науки** несомненна, так как её актуальность обусловлена интенсивным

внедрением продуктов, содержащих наноматериалы, в различные сферы деятельности человека. Широкое применение инновационных нанотехнологичных продуктов вызывает не только достижение желаемых эффектов, но и может сопровождаться негативным влиянием на организм. Последствия такого влияния необходимо изучать, чтобы понять морфогенез возникающих в органах нарушений. Дизайн работы и комплекс используемых методов полностью соответствуют современным биологическим исследованиям. Результаты работы Л.А. Шарафутдиновой вносят вклад в понимание биологических эффектов наночастиц диоксида титана после интраназального и перорального введения крысам, что, безусловно, отвечает планам биологических наук.

### **Степень разработанности темы исследования**

Несмотря на то, что наноматериалы изучаются более 30 лет, биологические свойства ни одного из них не изучены в полном объеме. Преобладающее количество работ направлено на изучение эффектов наночастиц диоксида титана *in vitro* на уровне отдельных молекул (белков, нуклеиновых кислот и др.) и клеточных культур (клеточные линии человека и других животных, опухолевые клетки и т.д.). Сравнительно мало работ посвящено исследованию влияния различных видов наноматериалов на организм. Несмотря на широкое экспериментальное изучение наночастиц диоксида титана, все еще нет однозначных представлений о механизмах их преобразования в организме, их элиминации, а также о негативных эффектах, связанных с их введением.

Следует отметить, что представления о потенциальных угрозах, отдаленных последствиях применения, токсичности наночастиц диоксида титана и др. также полностью не сформированы. Недостаточно изучены фармакокинетика и фармакодинамика наночастиц диоксида титана, неоднозначно определены органы-мишени и характер вызываемых в них изменений после введения наночастиц диоксида титана в организм. Ситуация осложняется тем, что токсичность наночастиц диоксида титана сильно

варьирует в зависимости от строения кристаллической решётки, их размера и модификации поверхности, способа введения в организм и может быть обусловлена различными механизмами. В диссертации Л.А. Шарафутдиновой осуществлён комплексный, междисциплинарный и многоуровневый подход к изучению структурно-функциональных изменений внутренних органов крыс после применения наночастиц диоксида титана, что соответствует современным тенденциям проведения биологических исследований.

### **Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В представленном исследовании использован комплекс современных морфологических методов исследования (иммуногистохимия, атомно-силовая микроскопия, трансмиссионная электронная микроскопия, морфометрия), позволивший автору изучить изменения структуры тимуса, селезёнки, шейных лимфатических узлов, семенников, печени и головного мозга крыс на органном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Исследование поведения животных и биоэлектрической активности коры конечного мозга крыс дополняют результаты морфологического анализа и даёт возможность автору судить о функциональных изменениях головного мозга. Определение клинико-лабораторных показателей крови совместно с исследованием структуры внутренних органов позволило автору обоснованно сделать заключение о морфо-функциональных изменениях в изученных внутренних органах, вызванных пероральным введением наночастиц диоксида титана.

Основное количество исследований влияния наночастиц диоксида титана на организм в эксперименте сосредоточено на органах с развитой системой мононуклеарных фагоцитов (печень, лёгкие, селезёнка), а также головном мозге и почках. Преимуществом работы Л.А. Шарафутдиновой является изучение влияния наночастиц диоксида титана на органы половой системы крыс, а также исследование эмбриотоксичности этих наночастиц.

Автором впервые с помощью комплекса морфологических (гистологического, иммуногистохимического, электронномикроскопического) методов показано, что пероральное введение крысам наночастиц диоксида титана в форме рутила в суммарной дозе 10 мг/кг<sub>массы тела</sub> вызывает структурно-функциональные изменения тимуса, селезёнки, шейных лимфатических узлов, печени и головного мозга.

Установлено, что интраназальное введение наночастиц диоксида титана в форме рутила в дозе 10 мг/кг<sub>массы тела</sub> сопровождается развитием комплекса ультраструктурных изменений в нейронах.

Впервые доказано, что сокультивирование наночастиц диоксида титана в форме рутила в дозе 0,75 мг/л с нейтрофилами крови человека вызывает структурные изменения в последних.

Пероральное введение самцам крыс наночастиц диоксида титана в форме рутила вызывает дистрофические изменения в сперматогенном эпителии и сопровождается нарушением сперматогенеза. Пероральное введение наночастиц диоксида титана в форме рутила беременным самкам приводит к увеличению предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности, а также морфо-функциональными нарушениями у потомков в раннем постнатальном периоде онтогенеза.

### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Результаты, полученные в экспериментальном исследовании Л.А. Шарафутдиновой, расширяют имеющиеся представления о биологических эффектах наночастиц диоксида титана на организм в эксперименте. Исследование раскрывает последствия воздействия наночастиц диоксида титана на организм крыс после перорального и интраназального введения в дозе 10 мг/кг<sub>массы тела</sub> и демонстрирует их относительно низкую токсичность.

В работе получены фундаментальные данные, раскрывающие морфо-функциональные аспекты взаимодействия наночастиц диоксида титана с различными органами иммунной, нервной и половой систем в эксперименте,

которые свидетельствуют о повреждающем действии изучаемых наночастиц на органы, ткани и клетки крыс. Полученные результаты привлекают внимание к проблеме широкого использования наночастиц диоксида титана в быту современного человека (продукты питания, косметические средства) и заставляют задуматься о мерах ограничивающих контакт с этими наночастицами. Результаты исследования являются научным обоснованием необходимости ограничения оборота наночастиц диоксида титана или разработки подходов для устранения негативных эффектов этих наночастиц на организм. Описанные морфо-функциональные изменения демонстрируют, что пероральное и интраназальное введение наночастиц диоксида титана в дозе 10 мг/кг<sub>массы тела</sub> не является безвредным. Полученные данные могут стать основой для дальнейших исследований, направленных на установление безопасной концентрации наночастиц диоксида титана в продовольственных товарах, лекарственных препаратах, средствах гигиены и т.д.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Сведения о морфо-функциональных и компенсаторно-приспособительных изменениях, происходящих в тимусе, селезёнке, шейных лимфатических узлах, печени, крови, головном мозге и семенниках крыс после воздействия наночастиц диоксида титана, расширяют и углубляют представления об их биологических эффектах и раскрывают особенности взаимодействия наночастиц диоксида титана с некоторыми органами иммунной, нервной и половой систем. Полученные результаты дополняют соответствующие разделы учебных курсов таких дисциплин как анатомия человека, гистология, цитология, эмбриология, патологическая анатомия, токсикология, профессиональная патология.

Автором убедительно доказано, что пероральное и интраназальное введение наночастиц диоксида титана в дозе 10 мг/кг<sub>массы тела</sub> в течение 30 суток сопровождается структурно-функциональными изменениями в органах иммунной, нервной и половой систем крыс, последствия которых трудно

прогнозировать. Одной из важнейших практических рекомендаций может служить проведение мониторинга структурно-функционального состояния изученных в диссертации внутренних органов у лиц, которые принимают участие в производстве наночастиц диоксида титана или в силу особенностей профессии имеют контакт с продуктами, содержащими эти наночастицы.

По теме диссертации опубликовано 40 научных работ, из них 14 статей в журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации. Текст автореферата полностью соответствует содержанию рукописи диссертации.

Выводы диссертации основаны на фактическом материале, однако, формулировка некоторых из них (№ 2-6) констатирует полученные результаты и лишены какого бы то ни было обобщения. Например, вывод 4 гласит, что: «При ежедневном пероральном введении крысам наночастиц диоксида титана в печени определяются: дистрофические изменения гепатоцитов, избыточная активация перисинусоидальных липоцитов, увеличение числа CD68<sup>+</sup> резидентных макрофагов и увеличение пролиферативной активности с повышением числа Ki-67-иммунопозитивных клеток». Хотелось бы видеть вывод, в котором говорится о влиянии перорального введения наночастиц диоксида титана на печень крыс и о значении описанных морфологических изменений.

Замечания:

1. Глава «Обзор литературы», несмотря на внушительный объём (69 стр.) содержит довольно мало сведений о влиянии на организм экспериментальных животных и человека наночастиц диоксида титана. Гораздо больше сведений в главе «Обзор литературы» приведено о наночастицах золота, магнетита, оксида цинка, углеродных нанотрубках и др., чем о наночастицах диоксида титана. Хотелось бы видеть более конкретное изложение, относящееся именно к влиянию наночастиц диоксида титана с разным размером частиц, при разных способах введения, в *in vitro* и *in vivo* исследованиях и пр. Следует отметить, что только в разделах 1.2.3 и 1.2.4 содержится достаточно сведений о наночастицах диоксида титана.

2. В главе «Материал и методы» отсутствуют сведения о массе и возрасте животных, а также не указаны способы, которыми осуществлялось интраназальное и пероральное введение наночастиц диоксида титана крысам. При описании гистологических методов исследования не указаны органы, которые подвергались изучению (они упоминаются только в таблице 3). При изложении клинико-лабораторных исследований крови говорится лишь, что в работе изучалось 18 параметров. Эти параметры приводятся позднее в таблицах главы «Результаты собственных исследований».

3. В работе имеются термины не соответствующие современной гистологической номенклатуре (мозговая ткань, печёночная ткань, ткань селезёнки, красная кровь, белая кровь, мононуклеарная макрофагическая система, интерстициальные клетки Лейдига) и ряд других.

4. В рукописи присутствуют неудачные формулировки: «процессы сперматогенеза», «межфолликулярная зона лимфоцитов», «гипреагрессия нейтрофилов», «уровень ферментов» и др.

5. Большинство рисунков-фотографий лишено указателей, что затрудняет обнаружение описываемых автором структурных изменений во внутренних органах.

Вопросы:

1. В какой форме (порошок, раствор, аэрозоль, суспензия или др.) вводились наночастицы диоксида титана животным? Каким образом осуществлялось пероральное введение наночастиц диоксида титана животным: кормление или внутрижелудочное введение?

2. При изучении влияния наночастиц диоксида титана на нейтрофилы крови человека был ли подтвержден факт взаимодействия между клетками и наночастицами? Чем объясняется изменение структурных характеристик нейтрофилов крови человека после сокультивирования с наночастицами диоксида титана: прямым или опосредованным влиянием наночастиц?

3. Автор неоднократно утверждает, что после введения наночастиц диоксида титана отмечается увеличение гибели клеток в органах иммунной системы по механизму апоптоза. На чём основывается это утверждение, каким образом автор подтверждал гибель клеток именно по механизму апоптоза?



**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** диссертация Шарафутдиновой Люции Ахтямовны «Морфофункциональные изменения нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии наноразмерного диоксида титана в форме рутила (экспериментальное исследование)», представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение проблемы взаимодействия наночастиц диоксида титана с организмом в эксперименте при пероральном и интраназальном введении, имеющей важное значение для цитологии и гистологии. Диссертация полностью соответствует п. 9 постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 «О присуждении ученых степеней», а её автор, Шарафутдинова Люция Ахтямовна заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России протокол № 1 от «21» января 2020 г.

Профессор кафедры морфологии и общей патологии  
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России,

д-р биол. наук, доцент



Иван Васильевич Мильто

27.01.2020

Сведения об авторе отзыва: Мильто Иван Васильевич – доктор биологических наук (03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и 03.01.04 – биохимия), доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, +7 (3822) 90-11-01, доб. 1824, e-mail: [milto\\_bio@mail.ru](mailto:milto_bio@mail.ru)).

