

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д001.004.01 НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 27 февраля 2020 г. № 4

о присуждении Шарафутдиновой Люции Ахтямовне, гражданке Российской Федерации ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Морфофункциональные изменения нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии наноразмерного диоксида титана в форме рутила (экспериментальное исследование)» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 17 октября 2019 года протокол №12 диссертационным советом Д 001.004.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418 г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3), сайт организации www.morfolhum.ru, созданном в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Шарафутдинова Люция Ахтямовна 1975 года рождения. В 1998 году окончила биологический факультет Башкирского государственного университета. В 2001 году Л.А. Шарафутдинова защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Структурно-функциональная организация центрального ядра миндалевидного комплекса мозга» по специальности гистология, цитология, клеточная биология (03.00.25) в диссертационном совете Д212.117.01, созданном на базе Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (г. Саранск). Работает в должности доцента кафедры физиологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет».

Диссертация выполнена на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский

университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на кафедре физиологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный консультант – Валиуллин Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет».

Официальные оппоненты: 1. Гмошинский Иван Всеволодович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 2. Бгатова Наталия Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией ультраструктурных исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» - филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 3. Плескова Светлана Николаевна, профессор кафедры "Нанотехнология и биотехнология" ФГБОУ ВО "Нижегородский государственный технический университет имени Р. Е. Алексеева" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации дала положительное заключение, подписанное профессором кафедры морфологии и общей патологии, д.б.н., доцентом И.В. Мильто, в котором указано, что диссертация Шарафутдиновой Л.А. соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 в редакции

от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук.

Соискатель имеет 81 опубликованную научную работу, в том числе 40 – по теме диссертации, из них 14 работ опубликованы в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 1 статья опубликована в научном рецензируемом журнале, не входящем в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 25 публикаций в материалах научных конференций. 3 публикации по теме диссертации написаны без соавторов, 37 – в соавторстве, в 31 из них соискатель является первым автором, общий объем публикаций 915 страниц.

Наиболее значимые работы:

1. Исследование эмбриотоксического действия наночастиц диоксида титана на крыс / Шарафутдинова Л.А., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. // Морфологические ведомости. – 2017. – Т. 25. – № 3. – С. 37-42.
2. Нейротоксические эффекты наночастиц диоксида титана / Шарафутдинова Л.А., Федорова А.М., Башкатов С.А., Синельников К.Н., Валиуллин В.В. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2018. – Т. 15. – № 1. – С. 87-95.
3. Морфологические характеристики гиппокампа крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана / Шарафутдинова Л.А., Валиуллин В.В. // Российские нанотехнологии. – 2018. – Т. 13. – № 3-4. – С. 104-107.
4. Структурно-функциональная характеристика сперматогенного эпителия крыс в условиях воздействия наночастиц диоксида титана /

Шарафутдинова Л.А., Федорова А.М., Башкатов С.А., Синельников К.Н., Валиуллин В.В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166. – № 8. – С. 241-245.

5. Структурные и биомеханические характеристики нейтрофилов крови на фоне воздействия наночастиц диоксида титана (исследование с помощью атомно-силовой микроскопии) / Шарафутдинова Л.А., Замула Ю.С., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. // Морфология. – 2018. – Т. – 154. – № 4. – С. 40-45.

6. Токсическое влияние наночастиц диоксида титана на морфологические характеристики тимуса / Шарафутдинова Л.А., Синельников К.Н., Валиуллин В.В. // Казанский медицинский журнал. - 2018. – Т. 99. – №6. – С. 947-953.

7. Морфофункциональная характеристика семенников крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана / Шарафутдинова Л.А., Синельников К.Н., Валиуллин В.В. // Вестник новых медицинских технологий. – 2018. – №6. – С. 293-298.

8. Структурные особенности и чувствительность клеток гиппокампа к эндотелиальному сосудистому фактору роста на фоне интраназального введения наночастиц диоксида титана / Шарафутдинова Л.А., Валиуллин В.В. // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2018. – Т. 7. – № 4. – С. 94-101.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в работе отсутствуют.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от доктора медицинских наук, заведующего кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета Акулинина В.А.; от доктора медицинский наук, профессора, заведующей кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Смоленского государственного медицинского университета Степановой И.П. Отзывы положительные, критических замечаний в отзывах по представленной работе

нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают полученные результаты.

Выбор ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в качестве ведущей организации обоснован тем, что на кафедре морфологии и общей патологии этого учреждения ведущими специалистами в течение многих лет проводятся исследования тканевых, клеточных и молекулярных механизмов гисто- и гемосовместимости модифицированных титансодержащих поверхностей имплантатов, а также влияния наноразмерных частиц оксида железа на морфофункциональное состояние внутренних органов крыс.

Выбор оппонентов обоснован тем, что: 1. Гмошинский Иван Всеволодович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», является автором публикаций по вопросам оценки безопасности различных видов наноматериалов, предлагаемых для использования в пищевой промышленности, в том числе и диоксида титана, принимает участие в разработке критериев и определении биомаркеров воздействия искусственных наночастиц на организм при пероральном пути поступления; 2. Бгатова Наталия Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией ультраструктурных исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» - филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук является одним из ведущих специалистов, исследующих пути миграции и накопления неорганических

наночастиц при их введении в область опухолевого роста, элиминации, взаимодействия с биоструктурами на клеточном и субклеточном уровнях организации, функции клеток, в которых накапливаются наночастицы; 3. Плескова Светлана Николаевна, профессор кафедры "Нанотехнология и биотехнология" ФГБОУ ВО "Нижегородский государственный технический университет имени Р. Е. Алексеева" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации – ее научные интересы посвящены вопросам использования атомно-силовой микроскопии в биомедицинских исследованиях, всестороннему и комплексному исследованию разного типа внешних воздействий на морфологию, биохимический и функциональный статус клеток.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** новая научная концепция о повреждающем воздействии широко используемой в потребительской продукции рутильной формы нанодисперсного диоксида титана на морфофункциональное состояние нервной, иммунной и репродуктивной систем вследствие их способности преодолевать гематические барьеры и аккумулироваться в тканях и органах; **охарактеризованы** морфологические, клеточные и молекулярно-биологические изменения органов лимфоидной, нервной и репродуктивной систем при воздействии нанодисперсного TiO_2 рутильной модификации; на экспериментальной модели **показано**, что даже максимально допустимое содержание наночастиц диоксида титана в окружающей среде или продуктах питания не является безопасным для организма, и необходимы перспективные исследования допустимых уровней содержания диоксида титана в пищевых продуктах, лекарственных препаратах и др.; **доказано**, что пероральное и интраназальное введение наночастиц диоксида титана в дозе 10 мг/кг массы тела сопровождается структурно-функциональными изменениями в органах иммунной, нервной и репродуктивной систем.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны следующие положения: пероральное введение НЧ TiO_2 рутильной модификации оказывает воздействие на пролиферацию, дифференцировку и устойчивость к апоптозу клеток лимфоидных органов, что характеризуется акцидентальной инволюцией тимуса, редукцией белой пульпы селезенки и гиперплазией функциональных зон лимфатических узлов.

При воздействии в системе *in vitro* негативные эффекты НЧ TiO_2 на нейтрофилы периферической крови человека, по данным атомно-силовой микроскопии, заключаются в их цитофизиологических изменениях – нарушении структуры поверхности клеток и повышении ригидности, что косвенно указывает на потенциально низкую деформируемость клеточных мембран и является отражением нарушения миграционной способности клеток крови. При интраназальном введении НЧ TiO_2 в гиппокампе и центральном ядре миндалевидного комплекса головного мозга крыс выявлены повреждения нейронов, изменения нейро-глиального соотношения, активация процессов ангиогенеза, что сопровождается изменением биоэлектрической активности головного мозга, снижением ориентировочно-исследовательской активности, формированием негативно-эмоционального состояния. Сперматогенез обладает высокой чувствительностью к воздействию НЧ TiO_2 , что проявляется деструктивными изменениями сперматогенного эпителия и интерстициальных клеток семенников, уменьшением количества $c\text{-kit}^+$ стволовых клеток и снижением их пролиферативной активности. Поступление НЧ TiO_2 в организм беременных самок крыс повышает уровень эмбриональной летальности и нарушает как антенатальное, так и раннее постнатальное развитие потомства.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых исследований морфофункционального состояния нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии рутильной формы нанодисперсного диоксида титана в экспериментальных условиях, включая модели *in vitro*, с помощью

гистологического, морфометрического, электронномикроскопического методов, метода атомно-силовой микроскопии, клинико-лабораторных, электрофизиологических, поведенческих тестов, статистического анализа, позволивших детально изучить не только структурные нарушения тканей и клеток, но и охарактеризовать их функциональное состояние. **Изложены доказательства** того, что при пероральном введении НЧ TiO_2 в концентрации, эквивалентной среднесуточной дозе потребления человеком, в тимусе и белой пульпе селезенки наблюдается опустошение за счет снижения пролиферативной активности клеток в сочетании с увеличением числа гибнущих клеток по механизму апоптоза. В лимфатических узлах выявлены гиперплазия В- и Т-зон, макрофагальная реакция в синусах. В печени на фоне дистрофических изменений и повышения активности индикаторных ферментов увеличивается количество CD68^+ макрофагов и пролиферативная активность гепатоцитов. **Представлены доказательства** того, что в системе *in vitro* инкубация нейтрофилов с НЧ TiO_2 вызывает изменения механических свойств поверхности нейтрофилов, что косвенно свидетельствует об уменьшении скорости их миграции, задержке и агрегации в микроциркуляторном русле. **Установлены** дегенеративные изменения нейронов, активация астроцитов и стимуляция процессов ангиогенеза, существенные изменения биоэлектрической активности нейронов префронтальной области коры головного мозга крыс, а также повышение тревожности и уровня ориентировочно-исследовательской активности животных при интраназальном введении НЧ TiO_2 . **Обнаружены** дистрофические изменения сперматогенного эпителия и нарушение процессов сперматогенеза на фоне перорального введения НЧ TiO_2 . **Выявлено** увеличение показателей предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной летальности, а также признаки снижения скорости роста и морфо-функционального развития потомства в период раннего постнатального онтогенеза при пероральном введении НЧ TiO_2 самкам крыс в течение всего периода беременности.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что обоснованы эффекты системного повреждающего действия НЧ TiO_2 , содержащихся в различных видах потребительской продукции, при их поступлении в организм пероральным и ингаляционным/интраназальным путями. Выявленные морфофункциональные изменения в ключевых, в том числе и регуляторных системах показали, что при длительном воздействии НЧ TiO_2 те его дозы, которые могут (с поправкой на применяемую биологическую модель) поступать в организм человека с пищевыми продуктами, косметическими средствами, лекарственными препаратами и с учетом возможности аккумуляции, способны создавать угрозу для здоровья существующего и будущих поколений. Полученные данные о влиянии длительного воздействия рутильной формы нанодисперсного TiO_2 на иммунную, нервную и репродуктивную системы могут стать основой для дальнейших исследований по установлению безопасных уровней его содержания в продовольственных товарах, лекарственных препаратах, средствах гигиены и т.д., где их применяемые количества не регламентируются нормативными документами. Результаты работы целесообразно учитывать при уточнении оценок рисков, создаваемых НЧ TiO_2 , для здоровья человека и при разработке рекомендаций по управлению рисками. Научные факты, представленные в работе, могут быть использованы в качестве аргументации при разработке изменений и дополнений к Техническим регламентам, регулирующим использование TiO_2 в потребительской продукции в России и странах ЕАЭС.

Оценка достоверности результатов работы выявила, что обоснованность научных положений и выводов подтверждена объективными данными. Результаты получены на современном сертифицированном оборудовании. Для решения поставленных задач автором использован комплекс адекватных современных методов исследования. Высокая степень достоверности результатов, обоснованность выводов обеспечивается достаточным количеством исследованного материала, использованием

современных методов исследования, адекватной статистической обработкой полученных данных, критической оценкой результатов исследования при сравнении с данными современной научной литературы. **Теория** построена на известных данных о том, что НЧ TiO_2 , благодаря своим малым размерам, обладают рядом особых свойств, включая повышенную растворимость, химическую и каталитическую активность, способность захватываться клетками. Диоксид титана в наноформе не является биологически инертным и может оказывать различные виды повреждающего действия на живые организмы. Однако литературные сведения не дают комплексного систематизированного представления о морфофункциональных изменениях нервной, иммунной, репродуктивной систем, что не позволяет в полной мере оценить эффект воздействия НЧ TiO_2 на организм человека. **Идея исследования базируется** на анализе литературных данных о типах искусственных НЧ, их применении в медицине и потребительской продукции, токсических эффектах, оказываемых НЧ TiO_2 и родственными нанообъектами, включая проявления иммунотоксичности, органотоксичности, нейротоксичности и репродуктивной токсичности. **Использовано сравнение** собственных результатов с данными научной литературы по вопросу оценки влияния искусственных наночастиц на организм человека и теплокровных животных. **Установлено совпадение с данными литературы части полученных результатов** исследования о морфологических изменениях лимфоидных органов, печени, структур ЦНС, органов репродуктивной системы при различных способах введения наноформы диоксида титана в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным. **Использованы представительные выборки** наблюдений в разные сроки после перорального и интраназального введения рутильной формы нанодисперсного диоксида титана крысам обоего пола, в том числе и самкам крыс во время беременности, а также донорских образцов нейтрофилов для тестов *in vitro*, современные методы морфометрического и статистического анализа, что позволило детально охарактеризовать не только структурные изменения тканей,

адекватно идентифицировать клетки, но и охарактеризовать их функциональное состояние. **Личный вклад соискателя состоит в:** планировании исследования, постановке цели и задач, выборе методов исследования и подборе адекватных маркеров, проведении экспериментов, анализе и обобщении данных, статистической обработке, личном участии в апробации результатов исследования, подготовке публикаций.

На заседании 27 февраля 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Шарафутдиновой Л.А. ученую степень доктора биологических наук. 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 - 18, против - 0, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01
профессор, д.м.н.



Л.М. Михалева

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01
д.б.н.



А.М. Косырева

« 28 » _____ февраля _____ 2020 г.