

**ОТЗЫВ**  
**ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕТА**  
доктора физико-математических наук Хлебцова Б.Н.  
на диссертационную работу Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича  
**«Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на**  
**жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток»**, представленную к  
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности  
1.5.2. — биофизика

Диссертационная работа Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» посвящена исследованию антибактериальной активности и цитотоксичности композитных материалов на основе полимеров с включенными в состав наночастицами оксидов железа, цинка и алюминия.

**Актуальность выбранной темы**

Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений. Распространение антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов является серьезнейшей проблемой для здравоохранения, пищевой промышленности и других отраслей народного хозяйства. Несмотря на то, что наночастицы различных видов активно исследуются в качестве новых antimикробных и антибиопленочных агентов, до настоящего времени нет четкого понимания взаимосвязи физико-химических свойств наночастиц и их биологических функций. Особый интерес представляет поиск новых видов антибактериальных покрытий, не демонстрирующих значительной цитотоксичности, а значит потенциально не опасных для человека.

**Научная новизна**

- 1) Разработана технология изготовления композитных материалов на основе полимеров, содержащих наночастицы железа, алюминия и цинка в различных концентрациях, а также установлен регламент получения образцов пленок на их основе.
- 2) Продемонстрировано, что покрытия, содержащие в составе наночастицы оксида железа, способствовали генерации активных форм кислорода (гидроксильных радикалов и перекиси водорода). При контакте с данными покрытиями наблюдалось окислительное повреждение молекул ДНК и белков, что подтверждалось повышением содержания 8-оксогуанина в ДНК *in vitro*, — ключевого биомаркера окислительного стресса, а также увеличением концентрации долгоживущих активных форм белков.
- 3) Показано, что композитные материалы, функционализированные наночастицами оксида цинка, обладали ярко выраженными антибактериальными свойствами и способностью разрушать бактериальные биопленки.

4) Продемонстрировано, что все синтезированные композитные материалы на основе оксидов железа, цинка и алюминия не влияли на рост и развитие культур эукариотических клеток линии SH-SY5Y и первичных культур легочных фибробластов мыши.

#### **Достоверность полученных результатов**

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов подтверждается использованием в работе современных средств и методик проведения исследований, аттестованного лабораторного оборудования, соответствием основных результатов данным независимых исследований. Обработка результатов проведена с использованием статистических методов оценки погрешностей. Кроме того, работа прошла широкую апробацию, в том числе в ходе докладов на всероссийских и международных конференциях высокого уровня. Результаты диссертации в достаточной степени опубликованы. Защищаемые положения и результаты, выносимые на защиту, отражают решение основных проблемных вопросов, сформулированных в целях и задачах, поставленных в работе.

#### **Структура и содержание диссертации**

Диссертация изложена на 173 страницах печатного текста и содержит 74 рисунка, 4 таблицы. Работа состоит из введения, обзора методов синтеза и исследования биологической активности наночастиц оксидов металлов, главы с описанием материалов и методов исследования, одной главы с изложением экспериментальных результатов и их обсуждением, заключения и списка литературы. Список литературы включает 427 источников.

Во введении обоснована актуальность темы проводимого исследования, сформулирована цель и вытекающие из нее задачи.

Обзор литературы, выполненный в первой главе, посвящен основным методом синтеза наночастиц оксидов металлов, инкорпорированию в полимерные матрицы и исследованию их биологической активности. Литературный обзор выполнен на очень высоком уровне и в полной мере отражает все современные научные тенденции.

Во второй главе представлены материалы и методы исследования. Все представленные методологии отвечают современным требованиям к научной работе, а используемое оборудование является современным и сертифицированным.

В третьей главе описываются собственные экспериментальные работы, которые заключаются в следующем:

1) Синтез и характеристика наночастиц оксида железа, цинка и алюминия.

- 2) Получение и характеристизация композитных материалов на основе ПЛГА, боросиликата и тефлона с включенными в состав наночастицами в различной концентрации
- 3) Исследование антимикробных и цитотоксических свойств полученных композитных материалов в зависимости от концентрации наночастиц
- 4) Анализ данных и обсуждение основных возможных механизмов бактериостатического действия композитных наноматериалов

Наиболее важные полученные результаты заключаются в следующем:

Получены образцы композитных материалов на основе полимеров ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена, содержащие наночастицы оксидов железа, цинка и алюминия. Образцы пленок, изготовленные из полученных материалов, не обладали значительными дефектами поверхностей. Показано, что композитные материалы на основе ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена с добавлением наночастиц оксидов цинка и алюминия существенно не влияют на интенсивность генерации активных форм кислорода в водных растворах, не способствуют окислительному повреждению ДНК и белков *in vitro*. Установлено, что полученные композитные материалы проявляют выраженные бактериостатические свойства по отношению к суспензионным культурам клеток *E. coli*, при этом наиболее выраженную бактериостатическую активность проявляют материалы, содержащие НЧ оксида цинка. Материалы на основе НЧ оксида цинка обладали ярко выраженными бактерицидными свойствами относительно резистентных патогенных микроорганизмов, предотвращая образования биопленок на поверхности. Показано, что цитотокическое действие полученных композитных материалов менее выражено в отношении культур эукариотических клеток, по сравнению с прокариотическими клетками.

#### **Замечания по работе**

Несмотря на общую положительную оценку работы, возникает ряд вопросов и замечаний:

- 1) Предложенные на стр. 72 диссертации методики включения наночастиц в полимерную матрицу, очевидно, ведут к частичной агрегации частиц в ходе инкорпорирования. Как влияет такая агрегация на биологическую активность наночастиц? Другими словами, действительно ли необходимо, чтобы оксиды металлов имели именно размеры в нанодиапазоне, или достаточно микрочастиц?
- 2) В работе исследуется влияние образцов на планктонные культуры бактерий и адгезионные культуры эукариотических клеток. Было бы интересно исследовать влияние наноматериалов на развитие суспензионных культур эукариотических клеток.

- 3) Методика определения жизнеспособности бактерий по измерению оптической плотности культуры на длине волны 600 нм, хотя и является стандартной, имеет ряд недостатков. Например, результат очень чувствителен к агрегации бактерий. Мне кажется, эффективней было бы использовать тест на жизнеспособность на основе резазурина.
- 4) В работе не обсуждается зависимость антимикробной активности от размера частиц оксидов металлов. Данное исследование могло бы представлять интерес.
- 5) В главе 1 представлены обширные литературные данные об антибактериальном действии наночастиц оксидов металлов. Мне кажется, следовало провести сравнение полученных данных антибактериальной активности с уже известными аналогами.

Сделанные замечания и вопросы, тем не менее, не снижают научной значимости и целостности исследований, проведенных автором диссертационной работы.

### Заключение

Диссертационная работа Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» является самостоятельным законченным исследованием, выполненным с учетом требований современной науки. В диссертации содержится решение задач имеющих важное значение для современной биофизики. По актуальности проблемы, новизне и практической значимости полученных автором результатов диссертация соответствует требованиям пп. 9-11,13,14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Бурмистров Дмитрий Евгеньевич, достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

Ведущий научный сотрудник

Института биохимии и физиологии растений и  
микроорганизмов – обособленного  
структурного подразделения Федерального  
государственного бюджетного учреждения  
науки Федерального исследовательского Хлебцов Борис Николаевич  
центра “Саратовский научный центр  
Российской академии наук” (ИБФРМ РАН)

д.ф.-м.н

16 октября 2023 года

410049 г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

E-mail: khlebtsov\_n@ibppm.ru

Тел. +7(8452) 97-04-44

Подпись Хлебцова Б.Н. заверена

Учёный секретарь ИБФРМ РАН

к.б.н.

Селиванова Ольга Геннадьевна

