

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.340.06, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО»
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16.11.2023 г. № 11

О присуждении Бурмистрову Дмитрию Евгеньевичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» по специальности 1.5.2 - **биофизика** принята к защите 11.09.2023 г., протокол № 9, диссертационным советом 24.2.340.06, созданным на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от 14 октября 2016 года № 1256/нк).

Соискатель, Бурмистров Дмитрий Евгеньевич, 1997 года рождения, в 2020 г. окончил ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» с квалификацией магистр по направлению подготовки 06.04.01 Биология.

В период с 01.09.2020 по настоящее время обучается в очной аспирантуре в «Институте общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН). Диплом об образовании и квалификации №105204 0038304, регистрационный номер 37-143 выдан 10 июля 2020 г. ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского». Сдал кандидатские экзамены по специальности 1.5.2 – биофизика. Справка о сдаче кандидатских экзаменов №4756 от 03.05.2023г. выдана ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет».

В период подготовки диссертации Бурмистров Дмитрий Евгеньевич являлся исполняющим обязанности младшего научного сотрудника в Центре биофотоники «Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук». Представленные результаты были получены при выполнении исследований в рамках гранта Министерства Образования №075-15-2020-774.

Диссертация Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» выполнена на базе Центра биофотоники «Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук», была рекомендована к защите на заседании ученого совета Центра биофотоники ИОФ РАН 3 июля 2023 г., протокол №5.

Научный руководитель – Гудков Сергей Владимирович, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, руководитель Центра биофотоники ИОФ РАН.

Официальные оппоненты:

Хлебцов Борис Николаевич, д. ф.-м. н., ведущий научный сотрудник Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения ФГБОУ науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» (ИБФРМ РАН), г. Саратов.

Чернов Александр Сергеевич, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории инструментов для диагностики и терапии инфекционных заболеваний ФГБУ науки Института биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва.

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента, д. ф.-м. н., **Хлебцова Бориса Николаевича**, отмечается, получены образцы композитных материалов на основе полимеров ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена, содержащие наночастицы (НЧ) 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, содержащие наночастицы 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 цинка. Материалы на основе НЧ цинка обладали ярко выраженными бактерицидными свойствами относительно резистентных патогенных микроорганизмов, предотвращая образование биопленок на поверхности. Показано, что цитотокическое действие полученных композитных материалов менее выражено в отношении культур эукариотических клеток, по сравнению с прокариотическими клетками.

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

1. Предложенные на стр. 72 диссертации методики включения НЧ в полимерную матрицу, очевидно, ведут к частичной агрегации частиц в ходе инкорпорирования. Как влияет такая агрегация на биологическую активность НЧ? 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 супензионных культур эукариотических клеток.
3. Методика определения жизнеспособности бактерий по изменению оптической плотности культуры при 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 НЧ оксидов металлов. Мне кажется, следовало бы 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, которая является самостоятельным законченным исследованием, выполненным с учетом требований современной науки. В диссертации содержится решение задач, имеющих важное значение для современной биофизики. По актуальности, новизне и практической значимости полученных автором результатов диссертация соответствует требованиям пп.9-11, 13, 14 «Положение о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденное постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Бурмистров Дмитрий Евгеньевич, достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

В положительном отзыве официального оппонента, к.б.н., **Чернова Александра Сергеевича**, отмечается, что диссертационная работа Д.Е. Бурмистрова посвящена получению и изучению свойств композитных материалов на основе наночастиц оксидов металлов (оксида железа, цинка и алюминия) и полимерных матриц (поли(лактид-ко-гликолида, боросилоксана и политетрафторэтилена). В работе исследована способность материалов к генерации в водных растворах активных форм кислорода: пероксид водорода (наиболее долгоживущая) о ОН-радикалов (наиболее реакционно способная), являющихся основной причиной повреждения

биологических макромолекул. Изучено влияние материалов на развитие окислительных повреждений биологических молекул *in vitro* (ДНК и белки). Проведена оценка полученных материалов на жизнеспособность различных прокариотических и эукариотических клеток. Показано, что разработанные композитные материалы проявляют антибактериальную активность и оказывают минимальное воздействие на жизнеспособность культур клеток млекопитающих. Представленные результаты работы, в перспективе, могут иметь высокое практическое применение при создании материалов и покрытий, обладающих антимикробным воздействием, для нужд пищевой промышленности, биофармацевтической отрасли и лечебных учреждений.

Результаты проведенных исследований были изложены в материалах международных, всероссийских и региональных конференций. По материалам диссертации опубликовано 11 статей в журналах, индексируемых в международных системах цитирования Scopus, WoS. Диссертант является соавтором секрета производства, связанного со способом получения композитных полимерных материалов с НЧ оксидов металлов.

Имеется ряд замечаний и вопросов:

1. Введение диссертации включает исчерпывающую информацию, которая делает данную главу громоздкой для читателя. Возможно, автору следовало бы вынести в раздел «Обзор литературы» описания областей применения каждого из используемых в работе полимеров и исторические справки о композитных материалах.
2. Чем обусловлен выбор в качестве модели *in vitro* культур клеток нейробластомы человека SH-SY5Y? Известно, что при исследовании биобезопасности новых материалов, в первую очередь, необходимо уделять внимание их воздействию на органы-мишени (кожные покровы, органы дыхания, органы зрения и пр.).
3. В диссертационной работе сообщается об использовании разработанного низкотемпературного метода получения композитных материалов на основе полимеров и исследуемых наночастиц оксидов металлов, что, несомненно, представляет интерес. В введении также содержится информация о преимуществах применяемого метода, однако в тексте диссертации отсутствует описание существующих в настоящее время методов получения композитных материалов на основе полимерных матриц. В связи с этим возникает вопрос, какие еще существуют методы получения композитных материалов на основе полимеров и НЧ? Что нового сделал диссертант?
4. Имеются недочеты в оформлении структуры диссертации: нарушена последовательность нумерации разделов: указаны два раздела с одинаковыми номерами 2.2, расположенными подряд; также, после раздела 2.2.11 следует раздел с таким же номером, а затем идет раздел 2.2.10. В тексте автореферата и диссертации встречаются стилистические, грамматические и пунктуационные ошибки.

Несмотря на вышеизложенные замечания и вопросы, рецензируемая диссертационная работа является законченным оригинальным исследованием.

По актуальности, теоретической и практической значимости, объему проведенных исследований диссертационная работа Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата наук по научной специальности 1.5.2 – биофизика.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, в своем положительном отзыве, подписанном Артюховым Валерием Григорьевичем, д.б.н., профессором, заведующим кафедрой биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Антиповым Сергеем Сергеевичем, д.б.н., доцентом кафедры биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» и утвержденном д.ф.-м.н., проректором по науке, инновациям и цифровизации ФГБОУ ВО «ВГУ» Костиным Дмитрием Владимировичем, указывает, что диссертационная работа, выполненная Бурмистровым Дмитрием Евгеньевичем «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» является актуальным и оригинальным исследованием, выполненном на высоком уровне.

В диссертационной работе автор приводит данные о получении композитных материалов на основе наночастиц оксидов железа, цинка и алюминия, заключенных в полимеры при помощи разработанного низкотемпературного метода, оформленного в виде секрета производства (ноухау). Синтезированные в ходе работы НС и образцы композитных материалов на их основе были проанализированы с применением современных высокоточных методов диагностики. В частности, автором подробно изложены полученные результаты, включая характеристики наночастиц, анализ структуры поверхности материалов и распределения наночастиц в полимерных матрицах. Помимо этого, Бурмистров Д.Е. приводит результаты, демонстрирующие влияние полученных материалов на генерацию активных форм кислорода (пероксида водорода, гидроксильных радикалов), а также данные, позволяющие оценить их воздействие на белковые молекулы и содержание 8-оксогуанина, являющегося маркером развития окислительного стресса. В диссертационной работе приведены результаты исследования антибактериальных свойств в присутствии полученных материалов в биологических жидкостях и при формировании бактериальной пленки и исследуется воздействие этих материалов на жизнеспособность клеточных культур *in vitro*.

Работа оставляет положительное впечатление.

Вопросы и замечания:

1. Непонятно, для чего нужен параграф 2.2 «Приборы и аппаратура», по сути, дублирующий информацию, представленную далее в описании методов.
2. В разделе «Материалы и методы», при описании методики микробиологических исследований, не указан используемый штамм кишечной палочки, а также информация о том, на какой фазе роста осуществляли посев. Известны сотни различных штаммов данной бактерии с весьма отличающимися свойствами генома, а условия культивирования могут быть ключевыми при переключении экспрессии ряда генов. Для понимания происходящего автору следует дать ответ на вопрос: «Какой штамм *E. coli* был использован в экспериментах?».
3. В тексте диссертации вводятся аббревиатуры, которые затем не используются автором, либо применяются иные формы аббревиатур. Например, гидроксильные радикалы сокращаются как OH, OH-радикалы, либо используется полное написание; сокращение НЧ (наночастицы) также применяется не во всех случаях. С чем связано такое отсутствие стандартизации? Несет ли оно какой-либо смысл?
4. Как было упомянуто выше, подписи к рисункам 11,23,32,45,55,62 и 69 выполнены очень мелко, размерность шкал в нижнем правом углу на микрофотографиях, представленных на рисунках 28В, 51В, 74В невозможно прочитать, в подписях к рисункам масштаб также не указан. А также имеются рисунки, разнесенные на разные страницы.
5. Автор в тексте диссертации рассуждает о применении полученных в диссертации знаний в пищевой промышленности и даже медицине. На защите диссертации, в порядке дискуссии, хотелось бы услышать мнение докторанта о применении синтезированных композитных материалов, новых знаний и экспериментальных подходов в длительных биофизических экспериментах.
6. В тексте диссертации присутствует небольшое количество грамматических ошибок, в целом не мешающих пониманию мыслей докторанта.

Указанные выше замечания и вопросы являются не принципиальными и не снижают научную и практическую значимость данной работы.

Диссертационная работа Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика, является завершенным научным исследованием, выполненным современными методами, и отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Основные результаты опубликованы в

11 статьях в рецензируемых научных изданиях и представлены на научных конференциях соответствующего профиля. Автореферат полностью соответствует основным положениям диссертационной работы. Диссертационная работа Бурмистрова Дмитрия Евгеньевича «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в «Положении о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Авторский вклад соискателя составляет 84 %. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации Бурмистрова Д. Е. отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации.

1. Burmistrov D.E., Simakin A.V., Smirnova V.V., Uvarov O.V., Ivashkin P.I., Kucherov R.N., Ivanov V.E., Bruskov V.I., Sevostyanov M.A., Baikin A.S., Kozlov V.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Vedunova M.V., Gudkov S.V. Bacteriostatic and Cytotoxic Properties of Composite Material Based on ZnO Nanoparticles in PLGA Obtained by Low Temperature Method // Polymers. 2021. Vol. 14. p. 49. [doi: 10.3390/polym140100491].
2. Burmistrov D.E., Yanykin D.V., Paskhin M.O., Nagaev E.V., Efimov A.D., Kaziev A.V., Ageychenkov D. G., Gudkov S.V. Additive Production of a Material Based on an Acrylic Polymer with a Nanoscale Layer of ZnO Nanorods Deposited Using a Direct Current Magnetron Discharge: Morphology, Photoconversion Properties, and Biosafety // Materials. 2021. Vol. 14. p. 21. [doi: 10.3390/ma14216586].
3. Burmistrov D.E., Serov D.A., Simakin A.V., Baimler I.V., Uvarov O.V., Gudkov S.V. A Polytetrafluoroethylene (PTFE) and Nano-Al₂O₃ Based Composite Coating with a Bacteriostatic Effect against *E. coli* and Low Cytotoxicity // Polymers. 2022. Vol. 14, p. 4764.
4. Gudkov S.V., Burmistrov D.E., Serov D.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. A Mini Review of Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles // Frontiers in Physics. 2021. Vol. 9. p. 641481. [doi: 10.3389/fphy.2021.641481].
5. Gudkov S.V., Burmistrov D.E., Serov D.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. Do iron oxide nanoparticles have significant antibacterial properties? // Antibiotics. 2021. Vol. 10. p. 884. [doi: 10.3390/antibiotics10070884].
6. Gudkov S.V., Burmistrov D.E., Smirnova V.V., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. A Mini Review of Antibacterial Properties of Al₂O₃ Nanoparticles // Nanomaterials. 2022. Vol. 12. p. 2635. [doi: 10.3390/nano12152635].

7. Serov D.A., Burmistrov D.E., Simakin A.V., Astashev M.E., Uvarov O.V., Tolordava E.R., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Gudkov S.V. Composite Coating for the Food Industry Based on Fluoroplast and ZnO-NPs: Physical and Chemical Properties, Antibacterial and Antibiofilm Activity, Cytotoxicity // Nanomaterials. 2022. Vol. 12, p. 4158.
8. Chausov D.N., Burmistrov D.E., Kurilov A.D., Bunkin N.F., Astashev M.E., Simakin A.V., Vedunova M.V., Gudkov S.V. New Organosilicon Composite Based on Borosiloxane and Zinc Oxide Nanoparticles Inhibits Bacterial Growth, but Does Not Have a Toxic Effect on the Development of Animal Eukaryotic Cells // Materials. 2021. Vol. 14. p. 6281. [doi: 10.3390/ma14216281].
9. Gudkov S.V., Burmistrov D.E., Lednev V.N., Simakin A.V., Uvarov O.V., Kucherov R.N., Ivashkin P.I., Dorokhov A.S., Izmailov A.Yu. Biosafety Construction Composite Based on Iron Oxide Nanoparticles and PLGA // Inventions. 2022. Vol. 7. p. 61. [doi: 10.3390/inventions7030061].
10. Serov D.A., Baimler I.V., Burmistrov D.E., Baryshev A.S., Yanykin D.V., Astashev M.E., Simakin A.V., Sergey V Gudkov. The Development of New Nanocomposite Polytetrafluoroethylene/Fe₂O₃ NPs to Prevent Bacterial Contamination in Meat Industry // Polymers. 2021. Vol. 22. p. 4880.
11. Astashev M.E., Sarimov R.M., Serov D.A., Matveeva T.A., Simakin A.V., Ignatenko D.N., Burmistrov D.E., Smirnova V.V., Kurilov A.D., Mashchenko V.I., Ivashkin P.I., Uvarov O.V., Voronov V.V., Shkirin A.V., Nagaev E.V., Efimov A.D., Ivanov V.E., Bruskov V.I., Dubinin M.V., Sharapov M.G., Kozlov V.A., Bunkin N.F., Volkov M.Yu., Vedunova M.V., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Glinushkin A.P., Chausov D.N., Gudkov S.V. Antibacterial behavior of organosilicon composite with nano aluminum oxide without influencing animal cells // Reactive and Functional Polymers. 2022. Vol. 170. p. 105143. [doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105143].

Ноу-хай:

Симакин А.В., Бурмистров Д.Е., Гудков С.В. Секрет производства (ноу-хай): «Способ получения полимерных композитных материалов с антибактериальными свойствами». Приказ №313 от 31.10.2022 г. Правообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный научный центр Пищевые системы Российской академии наук.

Указанные публикации входят в перечень ВАК и международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов, все положительные. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, по своей новизне и актуальности имеет большое научное и

практическое значение, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены из:

1. Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института белка Российской академии наук, от к.ф.-м.н., научного сотрудника Лаборатории физики белка, **Балобанова Виталия Александровича**, г. Пущино. В положительном отзыве имеются вопрос и замечание:
 - A) Играет ли какую-то роль в антибактериальной активности распределение наночастиц в полимерных матрицах полученных материалов?
 - Б) Также отмечается присутствие некоторого количества орфографических ошибок и опечаток.Высказанные вопрос и замечание носят дискуссионный характер и не снижают общего положительного впечатления о диссертационной работе Бурмистрова Д.Е. Автор, безусловно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.
2. Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), от д.х.н., профессора, главного научного сотрудника лаборатории изотопных исследований **Брускова Вадима Ивановича**. В положительном отзыве имеется вопросы:
 - А) В тексте автореферата встречается ряд сложных предложений и конструкций, которые делают описание затруднительным для прочтения и восприятия.
 - Б) В автореферате отсутствует наименование штамма кишечной палочки, используемого для микробиологических исследований.Заданные вопросы носят дополняющий характер и не снижают общего положительного впечатления о диссертационной работе Бурмистрова Д.Е., соискатель заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.
3. Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный агринженерный центр ВИМ» (ФГБНУ ФНАЦ ВИМ), г. Москва, от д.т.н., профессора РАН, **Московского Максима Николаевича**, заведующего лабораторией «Технологий и машин для послеуборочной технологии зерна и семян», без замечаний.
4. Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр» Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИБК РАН), г. Пущино, д.ф.-м.н. **Пеньков Никита Викторович**, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории методов оптико-спектрального анализа. В положительном отзыве имеются вопрос и замечание:

А) В работе описывается исследование антибактериальной активности материалов в отношении культур E/coli, находящихся в суспензии питательной среды. Сопоставим ли данный эксперимент с реальными возможными путями контаминации поверхностей исследуемых материалов? Какой штамм E. coli был использован? Подписи сверху на рис.7 в автореферате дублируют информацию, представленную в описании к рисунку.

Несмотря на вышеизложенные замечания и вопросы, диссертационная работа Бурмистрова Д.Е., по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, соответствует требованиям ВАК, а автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

5. Федерального Бюджетного Государственного Научного Учреждения «Институт экспериментальной медицины, г. Санкт – Петербург, от д.б.н., **Соколова Алексея Викторовича**, заведующего лабораторией биохимической генетики. В положительном отзыве имеются замечания:

А) Небрежное форматирование текста и рисунков, неудачные термины в тексте и на осах ординат графиков, например, «перикись водорода», «нежизнеспособных клеток». На рисунках 10 и 13 оранжевые и зеленые столбики подписаны одинаково « $\text{H}_4\text{Fe}_2\text{O}_3 (0,1\%)$ ». Б) Рисунок 14 заставляет предположить изменения организации цитоскелета, вероятно окраска на актин позволила более однозначно судить о различиях полимерных покрытий или их отсутствии.

В положительном отзыве имеются вопросы:

А) проводился ли анализ концентрации Fe, Al, Zn в среде или культивируемых клетках?
Б) Учитывая визуальные признаки изменения морфологии и цитоскелета эукариотических клеток, планируется ли оценить влияние композитных материалов на инвазию бактерий в культивируемые эукариотические клетки?

Высказанные замечания и предложенные для дискуссии вопросы не умаляют общей высокой оценки диссертационной работы. По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне и практической значимости, диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата наук по научной специальности 1.5.2 – биофизика.

6. ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, г. Нижний Новгород, от к.б.н., **Щелчковой Натальи Александровны**, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией Института фундаментальной медицины. В положительном отзыве имеются вопросы и замечания:

А) Почему глава, посвященная описанию статистических методов, находится между описаниями методик (с. 8-9)? Обычно описание статистики размещают в конце главы Объекты и методы исследования.

Б) Какие устойчивые продукты окислительного повреждения белков могут образовываться при активации АФК?

Указанные замечания не имеют принципиального значения и не влияют на общую положительную оценку диссертации. Исходя из объективной оценки работы, согласно современным критериям – новизны, теоретической и практической значимости, можно сделать заключение, что работа Бурмистрова Д. Е. «Влияние наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток» соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в «Положении о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842: являются компетентными по заявленной в диссертации соискателя специальности, имеют профильные публикации по проблеме диссертационного исследования и способны объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»: <https://diss.unn.ru/1380>).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработан новый метод низкотемпературного получения композитных материалов на основе поли(лактид-ко-гликолида), боросилоксана и политетрафторэтилена с наночастицами оксидов цинка, железа и алюминия;
- установлено, что композитные материалы на основе ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена с наночастицами оксидов железа увеличивают интенсивность генерации активных форм кислорода в водных растворах, вызывают окислительные повреждения ДНК и белков *in vitro*;
- установлено, что полученные композитные материалы обладают бактериостатическими свойствами по отношению к суспензионным культурам клеток *E. coli*. 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 *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* серотип *Typhimurium*, предотвращая образования биопленок на поверхности;

- **показано**, что влияние полученных композитных материалов менее выражено в отношении культур эукариотических клеток, по сравнению с прокариотическими клетками

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказана** возможность генерации активных форм кислорода в водных растворах, контактирующих с исследуемыми композитными полимерными материалами, содержащими наночастицы оксида железа;
- **показано** образование продуктов окислительных повреждений ДНК и белков при контакте с образцами композитных материалов, содержащих 0,1% наночастиц оксида железа;
- **изучено** распределение наночастиц оксидов металлов (оксидов железа, цинка и алюминия) в полимерных матрицах боросилоксана, поли(лактид-ко-гликолида);
- **разработана** технология получения композитных материалов и плёнок на их основе, не имеющих значительных поверхностных дефектов;
- **показано**, что полученные композитные материалы, функционализированные наночастицами оксида цинка, обладали ярко выраженными антибактериальными свойствами и способностью разрушать бактериальные биопленки.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **определен**, что композитные материалы на основе политетрафторэтилена, содержащие наночастицы оксида цинка в концентрации 0,1%, оказывают выраженные антибактериальные свойства;
- **разработан** протокол получения композитных материалов и плёнок на их основе, не имеющих значительных поверхностных дефектов и обладающие биологической активностью;
- **представлена** возможность использования полученных композитных материалов в качестве покрытий, препятствующих росту и развитию бактериальных клеток на поверхностях, подверженных бактериальной контаминации.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- **проведено** значительное количество повторов экспериментов, позволившее оценить воспроизводимость результатов исследований, использованы адекватные статистические методы, выбор которых обоснован;
- **использовано** прецизионное высокотехнологичное оборудование и апробированные экспериментальные методы;

– установлена качественная и количественная согласованность с результатами других независимых исследований в независимых источниках по данной тематике.

Личный вклад соискателя состоит в участии в проведении экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе и обсуждении, а также личном участии в написании научных статей и апробации результатов исследования на научных конференциях и симпозиумах.

Диссертация является целостным, законченным научным исследованием, охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается четкой логикой и соответствующей содержанию работы структурой исследования, формулировками цели работы и выводов на основании полученных результатов. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1) С чем связан механизм хемилюминесценции белков после нагревания? 2) Как в растворе белков образуются свободные формы кислорода? Чем обусловлена люминесценция? 3) Наночастицы цинка вызывали более выраженный ингибирующий эффект, бактерицидный, чем наночастицы железа, как это можно объяснить? Чем обусловлено наличие у материалов с цинком более выраженного эффекта, чем с железом? 4) Что такое «долгоживущие белковые радикалы» и «долгоживущие активные формы белков». Какие времена жизни у долгоживущих и короткоживущих белков? 5) Карбонильные производные – это конечные этапы окислительных реакций? 6) При сильном окислительном стрессе образовалось много карбонильных производных, что с ними дальше происходит? 7) В качестве модельного объекта были выбраны фибробласты легкого. Почему Вы выбрали именно эти клетки как модельные? 8) Чем отличается термин «бактериостатический» от «цитотоксического»? 9) Есть ли корреляционная зависимость между активностью и размером частиц? Чем обусловлена низкая активность наночастиц оксида алюминия? 10) В механизмах активности наночастиц Вы рассматриваете только действие активных форм кислорода или есть другие механизмы? 11) Помимо метода спектрофотомерии, делались высеевы на плотные питательные среды? Делали ли Вы профилометрию на СЭМ-е? 12) Что из данных литературы известно о том, как цитотоксические, цитостатические свойства частиц зависят от размера?

Соискатель Бурмистров Д.Е. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию, указав, что:

1) Хемилюминесценция белков при нагревании связана с образованием активных форм кислорода при нагревании. Образуются активные формы кислорода, которые вызывают окислительные

повреждения белков, которые возможно детектировать. 2) Свечение основано на переходе молекулы в возбуждённое состояние, высвечивании кванта света при возвращении в основное при нагревании. 3) Существует несколько ключевых механизмов антибактериальной активности наночастиц, в частности наночастиц оксидов металлов. Один из них – это воздействие катионов металлов. Активность материалов содержащих наночастицы оксида цинка более выражена, это подтверждается литературными данными, их более высокой антибактериальной активностью, это мы видим и в нашей работе. Если говорить про наночастицы оксида железа, то для них показана возможность образовывать АФК, в первую очередь, в ходе реакции Фентона, поскольку катионы металлов переменной валентности способны катализировать данную реакцию. 4) Долгоживущие формы белков — это общее название для продуктов, которые образуются в ходе реакции окисления белков: белковые гидропероксиды, которые образуются при протонировании пероксильных белковых радикалов, которые образуются при присоединении кислорода к альфа-углерод-центрированным радикалам. Альфа-углерод-центрированные радикалы образуются непосредственно при воздействии АФК. В нашем случае, время полужизни детектируемых окисленных белковых молекул достигало пяти часов. 5) Карбонильные производные – это устойчивые продукты реакций разрыва белковой молекулы по месту бета-связи углерода. 6) Карбонильные соединения обладают высокой токсичностью. Известен ряд патологий, при которых накапливаются кетоны, вызывающие цитотоксический эффект на клетки и ткани. 7) При исследовании материалов, содержащих наночастицы, важно оценивать их активность в отношении клеток, с которыми они могут контактировать: в лёгочной ткани фибробласты образуют соединительную ткань. 8) По воздействию антибактериальных агентов различают несколько видов воздействия: бактериостатическое, бактерицидное и бактериолитическое. О бактериостатическом эффекте говорят, когда ингибируется деление бактериальных клеток. При бактерицидном эффекте происходит гибель бактериальных клеток. Бактериолитический эффект обусловлен воздействием поверхностно-активных веществ, при этом происходит разрыв клеточной стенки, мембран бактериальной клетки, утечка их содержимого. 9) Зависимость существует и считается, что чем ниже размер наночастиц, тем выше активность. Известно, что оксид алюминия — это достаточно инертное соединение. Вопрос об антибактериальных свойствах наночастиц оксида алюминия продолжает изучаться, есть работы, в которых показана значительная активность наночастиц оксида алюминия в отношении антибиотико-резистентных штаммов бактерий. 10) В работе иные механизмы не рассматривались, но они безусловно существуют: это воздействие катионов, электростатическое взаимодействие наночастицы с поверхностью бактериальной клетки. 11) Для материалов на основе политетрафторэтилена был применен метод смывов с последующими высевами на агар: на поверхности наносились покрытия, затем наносилась суспензия бактериальных клеток, далее делались смывы и высевы. Оценивалось количество КОЕ на единицу

объема. Профилометрия на СЭМ-е не делалась. 12) Есть тенденция к увеличению цитотоксического эффекта наноматериалов при уменьшении их размера. При уменьшении размера наночастиц, количество доступных поверхностных атомов увеличивается, частица становится более активна.

На заседании 16 ноября 2023 года диссертационный совет принял решение за исследование влияния наночастиц оксидов металлов, заключенных в полимеры, на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток, что имеет важное значение для развития биофизики, присудить Бурмистрову Дмитрию Евгеньевичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.2 – биофизика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 15, против 1, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета

Воденеев Владимир Анатольевич

Ученый секретарь

диссертационного совета

Черкасова Елена Игоревна



16 ноября 2023 года