

ОТЗЫВ

официального оппонента

д.м.н., профессора Филатова Бориса Николаевича на диссертационную работу Новикова Михаила Александровича «**Экспериментальная оценка особенностей токсического действия серебросодержащих нанобиокompозитов**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – Токсикология (биологические науки).

Актуальность проблемы диссертационного исследования

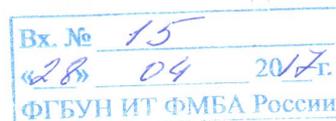
Известно, что с давних времен серебро использовалось в медицинской практике в связи с наличием выраженных бактерицидных свойств. Использовали его в основном для обезвреживания питьевой воды. В качестве лекарственных средств серебро и его производные не нашли широкого применения. Появление информации о возможном уменьшении порогов действия химических веществ в наноразмерной форме, с одной стороны, естественно, рассматривается как способ уменьшения дозы, необходимой для усиления фармакологического эффекта, с другой – должны быть проверены относительно возможного повышения токсичности и появления отдаленных последствий.

М.А. Новиковым исследовались принципиально новые нанопродукты (нанобиокompозиты), содержащие наночастицы серебра в составе, синтезированных на природной и синтетической полимерных матрицах – арабиногалактана (АГ) и поли-1-винил-1,2,4-триазол (ПВТ), созданные сотрудниками Иркутского института химии им. А. Е. Фаворского СО РАН. Естественно, применение данных нанокомпозитов невозможно без предварительного исследования их безопасности, чему и посвящена данная работа.

Научная новизна и теоретическая значимость

Автором впервые получены данные о способности наночастиц серебра, введенного в составе нанобиокompозитов, проникать через гематоэнцефалический барьер.

Как заявлено соискателем, в диссертации впервые представлены данные «о механизме действия наночастиц серебра, инкапсулированных в полимерные матрицы, на ткань головного мозга экспериментальных животных». Однако на самом деле, как следует из диссертации, «...была изучена нервная ткань височно-теменной зоны сенсомоторной коры головного мозга как нервный центр, обеспечивающий регуляцию основных физиологических функций организма и сложные формы поведения». Поэтому



корректно было бы называть лишь область, подвергшуюся исследованию, не подразумевая при этом в целом ткань головного мозга. Впрочем непонятен и выбор данной области мозга для исследований, хотя известно, что наиболее уязвимыми местами гематоэнцефалического барьера является отнюдь не кора больших полушарий, а глубинные структуры основания мозга. Полагаю, что более информативным был бы поиск вблизи этих образований. Но это отнюдь не отрицает новизну и важность полученных результатов; они действительно новы и заслуживают внимания.

В ходе экспериментов на уровне клеточной и субклеточной организации нейронов автором установлено, что нарушения возникают только при введении нанобиокompозита, созданного на природной матрице арабиногалактана, приводя к активации с постепенным нарастанием апоптотического процесса в нейронах головного мозга животных с одновременным увеличением экспрессии анти- и проапоптотических белков bcl-2 и caspase-3. В то же время показано, что использованная полимерная матрица на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола для транспорта наночастиц серебра подобным эффектом не обладает.

Практическая значимость

Полученные данные свидетельствуют о том, что полимерная матрица на основе поли-1-винил-1,2,4-триазол является перспективной в качестве контейнера для адресной доставки лекарственных и диагностических препаратов в нервную ткань головного мозга. Однако, для практического использования указанного композита следует убедиться в полной безопасности, проведя экспериментальные исследования в полном объеме.

С другой стороны, данные об отрицательном влиянии нанобиокompозита на основе арабиногалактана могут иметь практическое значение для предупреждения его практического применения.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена на современном методическом уровне, имеет вполне репрезентативный и достаточный по объему материал собственных исследований, который позволил автору дать обоснованные выводы и рекомендации. Результаты исследования автором достаточно полно представлены в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых ВАК научных журналов и в докладах на международных и российских симпозиумах.

Цель исследования сформулирована четко, задачи отражают основные этапы исследования.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов основывается на обследовании достаточного количества биологических объектов, правильности формирования групп, использовании высокоинформативных современных токсикологических, морфологических, биохимических, электронно-микроскопических и иммуногистохимических методов исследования, анализе и сопоставлении результатов экспериментальных исследований с данными литературы. Научные положения, выносимые на защиту, и выводы исходят из содержания работы.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырёх глав собственных исследований, заключения, выводов, списков использованной литературы. Диссертация представлена на 135 страницах, содержит 58 рисунков и 21 таблицу. Список литературы включает 207 источников, в том числе 137 на иностранных языках.

Во введении кратко обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту.

Аналитический обзор литературы изложен достаточно полно лаконично, включает в себя следующие части: наночастицы серебра – перспективные объекты биомедицинских исследований; апоптоз как один из возможных точек приложения воздействия нанобиокомпозитов; арабиногалактан и поли-1-винил-1,2,4-триазол – перспективные полимерные матрицы для создания нанобиокомпозитов медицинского назначения; методические подходы к токсико-гигиенической оценке действия наночастиц на современном этапе.

В обзоре представлены точки зрения и суждения отечественных и зарубежных авторов, используются достаточно современные публикации.

В главе «Материалы и методы обследования» диссертант описывает дизайн исследования, способы оценки воздействия серебросодержащих нанобиокомозитов на головной мозг беспородных белых крыс, но, к сожалению, при этом не указывает на предварительную наркотизацию животных. Это принципиально, так как при отсутствии наркоза перед декапитацией возможны существенные изменения в нервной ткани. Использованные методы исследования в основном соотносятся с поставленными целями и задачами диссертационной работы. К сожалению, соискатель не указал методы идентификации размерности и формы

использовавшихся наночастиц, а также их распределение по размерам, что в медико-биологических исследованиях наночастиц является обязательным.

Главы 3-5 посвящены в основном исследованиям и сравнительной оценке действия природного и синтетического нанокompозитов - аргентумарабиногалактана и серебра на матрице синтетического полимера поли-1-винил-1,2,4-триазола соответственно - на височно-теменную зону сенсомоторной коры головного мозга белых крыс в подостром опыте.

Для обоснования исходных доз автор провел острый опыт на белых мышах. Не достигнув гибели животных при пероральном введении препаратов белым мышам в дозе 5000 мкг/кг, сделан вывод о том, что они малоопасны, то есть относятся к IV классу. Поэтому для подострых опытов были выбраны дозы в 10 и 50 раз меньше (100 и 500 мкг/кг). Результаты исследований, полученные автором, вполне соответствуют результатам исследований по экспериментальному обоснованию ПДК наносеребра в воде водоемов и питьевой, выполненных в ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России в период 2010-2012 г.г.

Из приведенных далее данных о результатах некоторых биохимических, морфологических, электронно-микроскопических и иммуногистохимических исследований естественно установлено, что в изученных дозах соединения далеко не безвредны. При их воздействии у животных отмечена активация защитных звеньев антиоксидантной системы, при этом уровень конечных продуктов перекисного окисления липидов остается неизменным. Морфологическое исследование показало увеличение периваскулярных пространств, расширение проводящих волокон, набухание миоцитов и эндотелиоцитов сосудов, утолщение стенки артерий, появление большого количества темных нейронов, нарушение их ультраструктуры при введении обеих доз нанобиокompозита (100 мкг/кг и 500 мкг/кг). Проведенное иммуногистохимическое исследование выявило активацию экспрессии проапоптотического белка caspase-3 при воздействии нанобиокompозита в дозе 100 мкг/кг, что в отдаленном периоде дожития может привести к гибели нейронов. Автор делает важный для практики вывод, что выявленные нарушения клеточной и субклеточной организации нейронов наблюдались только при введении нанобиокompозита на матрице арабиногалактана, с которым нельзя не согласиться.

В главе 6 «Разработка алгоритма по изучению нейротоксичности нанобиокompозитов» представлена концептуальная модель алгоритма по изучению нейротоксичных свойств нанобиокompозитов. Это ново и полезно.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации. Основные положения и выводы автореферата отвечают

поставленным задачам, достаточны, обоснованы, отражают научную новизну работы и практическую направленность.

Результаты внедрения выполненных автором исследований. По результатам диссертационной работы подготовлен патент «Способ оценки токсического действия наночастиц серебра, инкапсулированных в полимерную матрицу арабиногалактана, на ткань головного мозга лабораторных животных в отдалённом периоде воздействия», (№ 2578545 от 27.03.2016). Материалы исследования реализованы в учебном процессе кафедры общей гигиены ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России и используются в педагогической и научной деятельности учебно-образовательного центра ФГБНУ «Восточносибирский институт медико-экологических исследований». Все документы подтверждены соответствующими свидетельствами и актами внедрения.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Однако, в порядке дискуссии хотелось бы знать мнение или пояснения соискателя по следующим вопросам:

1. При проведении токсикологических исследований химических веществ в подострых опытах в России принято их вводить не менее 14 дней. Чем было обосновано сокращение введения вещества в течении 9 дней?
2. В диссертации указано, что в опытах участвовало 120 белых крыс обоего пола, для подострого опыта было сформировано 8 групп. Желательно пояснить какова же была численность каждой группы? Это не представлено ни в тексте, ни в таблицах.
3. В результатах исследований отмечено обнаружение такого феномена как «очаговое разрыхление проводящих пучков». Это тяжелое повреждение миелиновых нервных волокон, более известное как демиелинизация. Существуют специальные методы окраски данной патологии. Какой метод окраски использовал автор?
4. В продолжение предыдущего вопроса: как объяснить наблюдаемый диссонанс между описанными тяжелыми изменениями в центральной нервной системе и отсутствием каких-либо, пусть даже визуальных, нарушений поведенческих реакций подопытных животных.
5. В общем-то исследования были в основном сконцентрированы на сравнительной оценке возможного вредного действия наночастиц серебра, инкапсулированных в природную или синтетическую матрицу. Объем остальных показателей не позволяет однозначно делать выводы о влиянии вещества на организм в целом, да и не на все основные системы и органы влияние изучено. Можно ли сделать

по результатам представленных исследований вывод о безопасности хотя бы изученного синтетического соединения?

Заключение

Диссертационное исследование Новикова Михаила Александровича «Экспериментальная оценка особенностей токсического действия серебросодержащих нанобиокмозитов», представленное на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология (биологические науки), представляет законченную работу, посвященную актуальным проблемам токсикологии. Представленная работа является научно-квалификационным трудом, в котором на основании экспериментальных исследований на грызунах степени опасности наночастиц серебра, инкапсулированных в природную или синтетическую матрицу расширены представления по оценке опасности воздействия наноструктурированных веществ на организм человека. Полученные результаты апробированы и внедрены в практику. По своей научной новизне, методическому решению поставленных цели и задач исследования, степени обоснованности научных положений и выводов представленная диссертационная работа М.А. Новикова соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология (биологические науки).

Официальный оппонент

директор Федерального государственного унитарного предприятия «Научно - исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства
д.м.н., профессор

Б.Н. Филатов

Подпись Б.Н. Филатова удостоверяю.

Ученый секретарь ученого совета
ГУП «НИИ ГТП» ФМБА России
к.б.н.



Е.В. Буланова

Сведения о лице, представившем отзыв на диссертацию:

Филатов Борис Николаевич

Почтовый адрес: 400048, г. Волгоград, ул. Землячки, 12

Телефон: рабочий, мобильный (8442) 78-62-02

e-mail: filatov@rihtop.ru

сайт: <http://www.rihtop.ru>

Место работы: Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

Должность: Директор ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России

25 апреля 2017 года