

Протокол № 109  
заседания диссертационного совета 24.2.288.02 по защите  
кандидатской диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук  
от 26.04.2022 г.

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 19 человек.  
Присутствовало на заседании 15 человек, в том числе по специальности  
– 5 докторов наук.

**Председатель:** д.м.н., профессор Алабовский Владимир Владимирович

**Присутствовали:** д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич,  
д.м.н., профессор Алабовский Владимир Владимирович, д.б.н., доцент  
Вашанов Геннадий Афанасьевич, д.б.н., профессор Грабович Маргарита  
Юрьевна, д.б.н., профессор Епринцев Александр Трофимович, д.б.н.,  
профессор Ершова Антонина Николаевна, д.б.н., профессор Калаев  
Владислав Николаевич, д.б.н.; профессор Корнеева Ольга Сергеевна, д.б.н.,  
доцент Наквасина Марина Александровна, д.б.н., профессор Пашков  
Александр Николаевич, д.б.н., профессор Попов Василий Николаевич, д.б.н.,  
профессор Попова Татьяна Николаевна, д.б.н., доцент Путинцева Ольга  
Васильевна, д.фарм.н., профессор Сливкин Алексей Иванович, д.б.н., доцент  
Холявка Марина Геннадьевна.

**Официальные оппоненты:**

- Воденев Владимир Анатольевич, доктор биологических наук,  
доцент, Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования "Национальный  
исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.  
Лобачевского", кафедра биофизики Института биологии и биомедицины,  
заведующий кафедрой - отсутствовал

- Пылаев Тимофей Евгеньевич, кандидат биологических наук,  
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов –  
обособленное структурное подразделение Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра



ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.288.02, СОЗДАННОГО  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» ПО ДИССЕРТАЦИИ  
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 26 апреля 2022 г. №109

О присуждении Шиловой Елене Васильевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Исследование и разработка магнитоиммунолипосом и нейтрофильных внеклеточных ловушек в качестве средств адресной доставки лекарственных веществ» по специальности 1.5.2 – биофизика принята к защите 19.02.2022 г., (протокол заседания № 103), диссертационным советом 24.2.288.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», Министерство науки и высшего образования РФ, 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1; приказ №717/нк от 09.11.2012.

Соискатель Шилова Елена Васильевна, 1 июля 1991 года рождения, работает ведущим инженером кафедры биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России.

В 2014 г. окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет».

В 2018 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Диссертация выполнена на кафедре биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор Артюхов Валерий Григорьевич, Федеральное государственное бюджетное

образовательное учреждение высшего образования, «Воронежский государственный университет», медико-биологический факультет, кафедра биофизики и биотехнологии, заведующий.

Официальные оппоненты:

- Воденеев Владимир Анатольевич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", кафедра биофизики Института биологии и биомедицины, заведующий кафедрой

- Пылаев Тимофей Евгеньевич, кандидат биологических наук, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» (ИБФРМ РАН), лаборатория нанобиотехнологии, научный сотрудник

- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», г. Москва, в своём положительном отзыве, подписанным профессором Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН (ИБХТН), доктором химических наук, профессором Станишевским Ярославом Михайловичем указала, что в работе решена задача оптимизации методов получения липосомальных частиц. Диссертационная работа Шиловой Е.В. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достойна присуждения искомой степени по специальности 1.5.2 – Биофизика.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 статьи, 1 патент.

Все работы посвящены исследованиям синтеза магнитных и липосомальных наночастиц, а так же изучению нейтрофильных внеклеточных ловушек.

В диссертации Шиловой Елены Васильевны отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Авторский вклад составляет 85%, объёмом 2,0 п.л.

Наиболее значительные научные работы:

1. Колтаков И.А. Изучение цитотоксичности иммуномагнитолипосом на примере культуры микроводоросли *Chlorella vulgaris* / И. А. Колтаков, Е.В. Шилова, В.Г. Артюхов // Российские нанотехнологии. – Т.17. №2. – 2022. – С.15-20
2. Koltakov I.A. Study of the immunomagnetoliposomes cytotoxicity to leucocytes and erythrocytes of human blood / I.A. Koltakov, E.V. Shilova, V.G. Artyukhov // Opera Medica et Physiologica. – №1. – 2022. – p.5-8.
3. Шилова Е.В. О создании магнитоуправляемых липосом для адресной доставки лекарственных средств / Е.В.Шилова, В. Г. Артюхов, Е.Д. Скорбач, М.В. Тололина, Г.Н. Близнецова, И.А. Колтаков // Нанотехнологии: разработка, применение: XXI век. – №4. – 2018. – С.9-14.

На диссертацию и автореферат поступило 5 положительных отзывов от:

1) Соловьёвой Анны Геннадьевны, д.б.н., заведующий отделом физико-химических исследований Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Минздрава России; 2) Ревина Виктора Васильевича, д.б.н., профессор, декан факультета биотехнологии и биологии ФГБОУ ВО "Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва"; 3) Кондратьева Максима Сергеевича, к.ф.м.н., заведующий лабораторией структуры и динамики биомолекулярных систем Института биофизики клетки РАН; 4) Дорохова Евгения Владимировича, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии Воронежского Государственного Медицинского Университета им. Н.Н. Бурденко; 5) Барышева Михаила Геннадьевича, д.б.н., профессор, профессор РАН, профессор кафедры радиофизики и нанотехнологий Кубанского государственного университета.

Все отзывы положительные, в них отмечается актуальность работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов. Замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью по тематике диссертационного исследования, наличием публикаций по данной тематике в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень ВАК РФ, содержанием диссертационной работы.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

модифицированы существующие методики синтеза магнитных наночастиц магнетита и марганцевого феррита, а также стандартизации размеров частиц липосом. Синтезированные магнитовосприимчивые частицы обладают необходимыми размерными характеристиками (размер магнетита составил  $4,23 \pm 1,19$  нм, марганцевого феррита –  $4,00 \pm 0,73$  нм) для встраивания в структуру бислоя липосом, размер магнитоиммунолипосом составил  $176,4 \pm 12,9$ .

предложен новый способ адресной доставки лекарственных веществ, применяемых в терапии заболеваний, в патогенезе которых принимают участие нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ).

доказано, что при стимуляции нейтрофилов крови человека частицами латекса (30 минут,  $37^\circ\text{C}$ ) происходит процесс нетоза по витальному механизму.

введены представления о предложенном способе адресной доставки лекарственных веществ к структурам НВЛ и использованием магнитовосприимчивых иммунолипосом.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

доказаны положения диссертационной работы: выявлено, что процесс нетоза при стимуляции нейтрофилов латексом происходит с участием и мтДНК, и ядерной ДНК. Оценено влияние концентрации исходных веществ и влияние ионного состава буферов на агрегационную устойчивость магнитных наночастиц. Выявлен режим ультразвуковой обработки, позволяющий стандартизировать размеры липосомальных наночастиц. Выявлено влияние покрытия магнетита цетилтриметиламмонния бромидом на процесс включения магнетита в липосомы. Показано отсутствие токсикологических свойств магнитоиммунолипосом в отношении эритроцитов и лимфоцитов крови человека, а также микроводоросли *Chlorella vulgaris*.

**Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов)**

использованы биофизические методы исследований (рентгеноструктурный анализ, просвечивающая и флуоресцентная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, ПЦР, ИФА, динамическое рассеяние света) для изучения структуры нейтрофильных внеклеточных ловушек, состава синтезированных магнитных наночастиц, размерных характеристик исследуемых систем, цитотоксического воздействия на клетки крови человека и микроводоросли *Chlorella vulgaris*.

изложены результаты исследований по созданию магнитоиммунолипосом, способных к взаимодействию со структурой НВЛ.

раскрыты механизмы образования внеклеточных сетей нейтрофилами при их стимуляции частицами латекса.

изучено влияние покрытия цетилтриметиламмония бромидом на эффективность включения магнетита в липидный бислой липосом из фосфатидилхолина.

проведена модернизация способов синтеза наночастиц магнетита и марганцевого феррита, а также липосомальных наночастиц. Созданные структуры обладают характеристиками, соответствующими предъявляемым к липосомальным системам доставки лекарственных веществ.

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

разработан новый подход к созданию средств адресной доставки лекарственных препаратов, заключающийся в объединении в структуре липосом магнитовосприимчивых компонентов, интегрированных преимущественно в липидный бислой, и вектора для взаимодействия со структурой НВЛ (антител к гистону H3).

определены оптимальные условия синтеза наночастиц магнетита, марганцевого феррита и липосом.

созданы магнитоиммунолипосомы, способные к взаимодействию со структурами НВЛ.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

для экспериментальных работ результаты воспроизводимы, получены на сертифицированном оборудовании, подвергнуты статистической обработке при использовании лицензионных компьютерных программ.

теория построена на новых экспериментальных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по исследованиям процесса нетоза и синтезу магнитоиммунолипосом.

идея базируется на анализе полученных экспериментальных данных и практике мирового опыта по созданию средств адресной доставки лекарственных веществ.

использованы сравнения авторских результатов и данных, полученных ранее при изучении процесса образования нейтрофилами внеклеточных ловушек.

установлено, что полученные автором результаты согласуются с имеющимися данными по изучению процесса образования внеклеточных сетей нейтрофилами и создания липосомальных форм лекарственных препаратов.

использованы современные методики сбора и статистической обработки исходной информации, обоснован подбор объектов наблюдения и измерения.

**Личный вклад соискателя состоит в** постановке и проведении экспериментов по поиску оптимальных условий синтеза парамагнитных наночастиц и липосом, исследованию размерных характеристик наночастиц методами динамического рассеяния света, просвечивающей электронной микроскопии, изучению условий образования НВЛ и их структуры, оценке цитотоксичности синтезируемых наночастиц и их взаимодействия со структурами НВЛ; проведении статистической обработки полученных данных, написании и подготовки статей к публикации. Материалы диссертации были доложены на Всероссийских и международных конференциях. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

В ходе защиты были высказаны следующие рекомендации: 1) провести дополнительные исследования, направленные на изучение взаимодействия синтезированных наносистем с клеточными линиями.

Соискатель Шилова Е.В. согласилась с высказанными рекомендациями, уточнив, что эксперименты на животных *in vitro* и *in vivo* будут проведены в ближайшее время.

Диссертация, представленная на соискание ученой степени кандидата наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи оптимизации методов получения липосомальных наночастиц.



На заседании 26.04.2022 г. диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи адресной доставки лекарственных препаратов к мишеням отдельных систем организма и выявления роли наносистем в названной проблеме, имеющей значение для развития молекулярной и клеточной биофизики, присудить Шиловой Е.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 15, «против» - нет, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета

Алабовский Владимир Владимирович

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Грабович Маргарита Юрьевна

26 апреля 2022 г.

