

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук на дисертаційну роботу Булаєвської
Марини Олександрівни

на тему: «Біотехнології штучного магнітомічення та природне магнітомічення клітин тварин»,
що подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 16 – Хімічна та
біоінженерія, за спеціальністю 162 – Біотехнології та біоінженерія

Актуальність теми дисертації та її зв'язок із державними науковими програмами.

Одним з ключових напрямків сучасної біотехнології є дослідження впливу нанорозмірних об'єктів на живі організми, а також їх використання з метою створення та виробництва корисних для людини продуктів, технологій та процесів. У дисертаційній роботі Булаєвської Марини Олександрівни «Біотехнології штучного магнітомічення та природне магнітомічення клітин тварин» розглянуто актуальні питання фізіологічного походження біогенних магнітних наночастинок в організмі тварин та обґрунтовано застереження щодо біомедичного застосування екзогенних магнітних наночастинок.

Актуальність теми дослідження полягала в необхідності встановлення локалізації біогенних магнітних наночастинок, їх кількості та морфології в різних органах тварин, а також визначення закономірностей накопичення магнітних наночастинок, введених ззовні. Дослідження природного та штучного магнітомічення клітин тварин відкриває ширші можливості для застосувань нанорозмірних об'єктів в біотехнологіях.

Дисертаційна робота виконувалася на кафедрі біоінформатики факультету біотехнології і біотехніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Дослідження проводилися в рамках двох науково-дослідних робіт, а саме: № 2866ф «Механізми інтенсифікації процесу сорбції іонів важких металів сухим магнітокерованим біосорбентом для очищення стічних вод» та № 2107ф «Дослідження біосорбентів з природними феримагнітними властивостями для очищення води»

Наукова новизна та теоретичне значення дослідження.

В роботі вивчено локалізацію біогенних магнітних наночастинок в печінці, кишківнику, підшлунковій залозі миші *Mus musculus*, легенях, нирках, селезінці свині *Sus domestica*, та в мозку коропа *Cyprinus carpio*, а також вивчення накопичення перорально введених наночастинок магнетиту у дозі 20 мкг/г/день в мозку, серці, печінці та нирках риб *Danio rerio*.

Вперше показано наявність біогенних магнітних наночастинок в органах немігруючих риб. Встановлено, що біогенні магнітні частинки в органах та тканинах тварин (риб, миші, свині) утворюють ланцюжки. Показано, що магнітні наночастинки в органах тварин розміщені в стінках капілярів (печінка, кишківник, підшлункова залоза, легені, нирки, селезінка та мозок). Встановлено, що у рослин магнітні наночастинки переважно локалізовані в стінці ситовидних

трубок флоєми, в грибах магнітні наночастинки локалізовані в стінках судиноподібних гіфів, які здійснюють транспорт речовин.

Вперше продемонстровано накопичення наночастинок магнетиту в мозку, серці, печінці й нирках риб *Danio rerio* в результаті штучного магнітомічення клітин. Поступове збільшення кількості магнітних наночастинок в досліджуваних органах риб *Danio rerio* в результаті введення наночастинок магнетиту в кількості 20 мкг/г/день підтверджене зростанням магнітофоретичної рухливості кластерів клітин мозку, серця, печінки та нирок риб *Danio rerio* на 1 добу, 7 добу, 14 добу та 28 добу перорального введення. В роботі також показано, що відбувається часткове виведення накопичених магнітних наночастинок з мозку, серця, печінки та нирок риб, що слід враховувати у разі магнітних наночастинок у діагностично-лікувальному процесі.

Практичне значення отриманих результатів.

У роботі показано, що відбувається накопичення введених ззовні магнітних наночастинок у різних органах тварин, саме тому слід з обережністю використовувати магнітні лікарські препарати, а також контрастні речовини, що містять магнітні наночастинки. Встановлення наноструктурної локалізації біогенних магнітних наночастинок та особливостей накопичення введених ззовні магнітних наночастинок в органах тварин на нанорівні має практичну цінність для розвитку застосувань біотехнологій в біомедицині.

Запропонований в роботі спосіб детекції та виділення клітин з природними та штучними магнітними властивостями дозволяє зменшити витрати часу на відділення клітин з магнітними властивостями та дозволяє працювати як з сухою біомасою клітин, так і з суспензією, що є важливим для застосувань в біотехнологіях.

Результати дисертаційної роботи використано в навчальному процесі кафедри біоінформатики факультету біотехнології і біотехніки КПІ ім. Ігоря Сікорського, при розробці лекцій, практичних та лабораторних занять з дисципліни «Основи біоінформатики» та дисципліни «Науково-практичні основи біоінформатики».

Ступінь обґрунтованості та достовірності основних висновків та результатів.

Наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, базуються на достатній кількості спостережень. Використані в роботі методи відображають сучасний науково-методичний рівень досліджень та є адекватними щодо поставлених завдань. В роботі проведено підготовку тканин до гістологічного дослідження, виготовлення магнітних наноміток, процедуру перорального введення розчину наночастинок магнетиту, визначення розподілу штучних магнітних наночастинок у тканинах після багаторазового введення, визначення магнітофоретичної рухливості. Автором залучено сучасні та високоінформативні методи дослідження: методи порівняльної протеоміки, метод електронного парамагнітного резонансу та метод скануючої зондової мікроскопії. Проведено розрахунок сили, що виникає між

біогенними магнітними наночастинками та штучно введеними магнітними наночастинками. Це дозволило автору отримати цілком надійні результати та дійти обґрунтованих висновків.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Результати дисертаційних досліджень добре представлені в опублікованих працях у наукових виданнях. За результатами досліджень опубліковано 29 наукових праць, в тому числі 6 статей у наукових виданнях (з них: 1 стаття у періодичному науковому виданні держави, яка входить до ОЕСР та/або Європейського Союзу, 3 статті у виданнях, які цитуються у науково-метричній базі Scopus; 2 статті у фахових видань України), 23 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Висновки сформульовані у відповідності до поставлених завдань і базуються на достовірних фактичних матеріалах дослідження, дані яких в достатній мірі висвітлені в опублікованих наукових працях. Зміст дисертації повністю відображає основні положення, результати, висновки та пропозиції і відповідає встановленим вимогам. Дисертаційна робота Булаєвської Марини Олександрівни є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів плагіату та запозичень, використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Оцінка змісту дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота складається з вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел, який містить 275 посилань та двох додатків. Роботу викладено на 160 сторінках друкованого тексту, вона містить 33 рисунків та 14 таблиць.

У вступі обґрунтовано актуальність проблеми, сформульовано мету та завдання досліджень, висвітлено наукову новизну та практичне значення результатів дисертаційної роботи, особистий внесок автора, структуру та обсяг дисертації.

У першому розділі узагальнено літературні дані щодо створення нановекторів на основі магнітних наночастинок, а також можливих біологічних ефектів наночастинок металів. Висвітлено перспективи застосування магнітних наночастинок у нанобіотехнологіях.

У другому розділі обґрунтовано напрямки досліджень, визначено об'єкти та методи дослідження. Представлена програма організації досліджень, яка відображає основні напрями та логічний зв'язок етапів експериментальної роботи.

У третьому розділі визначено можливих продуцентів біогенних магнітних наночастинок серед риб за допомогою біоінформатичного аналізу. Досліджено спектри електронного парамагнітного резонансу решітчастих кісток риб, товстолобика звичайного та лосося атлантичного, а також доведено, що вони виникають від біогенних магнітних наночастинок. Проведено оцінку кількості та максимального розміру магнітних наночастинок в органах мігруючих та немігруючих риб, та показано однаковий порядок величини проаналізованих показників для досліджуваних тварин.

У четвертому розділі показано основні закономірності локалізації магнітних наночастинок в органах та тканинах тварин, та визначено спільні риси розташування магнітних наночастинок у рослин та грибів.

У п'ятому розділі досліджено процес штучного магнітомічення клітин тварин та встановлено накопичення наночастинок магнетиту в мозку, серці, печінці та нирках риб. Продемонстровано, що часткове виведення магнітних наночастинок з досліджуваних органів відбувається через 28 днів після завершення їх введення.

Запропоновано спосіб детекції та виділення клітин з природними та штучними магнітними властивостями, перевагами якого є зменшення витрат часу на виявлення та виділення клітин з пара-, фери-, або феромагнітними властивостями, а також можливість роботи з сухою біомасою клітин та із суспензією, що є важливим для застосувань в біонанотехнологіях.

Обґрунтовано необхідність застосування отриманих результатів у разі використання магнітних наночастинок для діагностики та лікування.

Дисертація Булаєвської Марини Олександрівни за своїм змістом є завершеною науковою працею, розділи якої логічно пов'язані між собою, з визначенням наукових результатів і відповідної новизни. За обсягом, об'єктами і методами дослідження дисертаційна робота відповідає спеціальності 162 – Біотехнології та біоінженерія та профілю спеціалізованої вченої ради ДФ 26.002.056.

Дискусійні питання та зауваження до оформлення та змісту дисертаційної роботи.

1. Огляд літератури, який повинен відображати стан питання і можливі напрями його розвитку, бути чітко прив'язаний до мети і задач дослідження написан досить неінформативно. Історія розвитку проблеми біомінералізації раптово надана у 4 –розділі (стор. 85-88). Також в огляді відсутні відомості про білки, що впливають на біомінералізацію. В цей розділ необхідно було ввести матеріал, що розглянуто на стор. 62-65, третього розділу.
2. В роботі проведено вивчення тваринних організмів, що належать до різних систематичних груп та відрізняються особливостями свого метаболізму, включаючи шляхи і хімічні форми засвоєння заліза. Навіть види риб, розглянуті в роботі, океанічні та річкові, знаходяться у різних екологічних середовищах, включаючи мінеральне оточення, що безумовно впливає і на хімічні форми засвоєння заліза. А саме ці питання-мінералізації середовища та форм засвоєння мінералів, включаючи залізо, а не належність обраних видів риб до мігруючих, або до немігруючих, є головним. Розгляду цих питань в роботі зовсім не приділена увага. Це робить перехід безпосередньо до

аналізу баз даних по протеоміці і обґрунтування таким шляхом можливостей біомінералізації у немігруючих риб непереконаливим.

3. В розділі 2 «Матеріали і методи дослідження» автор не надав інформації про умови вирощування грибів та рослин (картоплі).

4. В роботі зустрічаються дивні твердження, наприклад, кровеносна система ссавців (мишей, свиней) названа провідною (...вперше показано, що БМН в органах та тканинах тварин локалізовані в провідних тканинах, так само, як у рослин та грибів, стор.30) .

5. При оформленні роботи допущено стилістичні помилки та трапляються невдалі вирази, наприклад, «основні закономірності наноструктурної локалізації»..

Проте висловлені зауваження не є принциповими щодо змісту роботи, носять дискусійний характер та не зменшують наукової та практичної цінності дисертації.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Булаєвської Марини Олександрівни на тему: «Біотехнології штучного магнітомічення та природне магнітомічення клітин тварин» є самостійною і закінченою науково-дослідною роботою, що містить отримані автором нові обґрунтовані результати, які вирішують важливе і актуальне питання можливості використання магнітних наночастинок з діагностичною та лікувальною метою.

За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, обсягом представлених досліджень, ступенем обґрунтованості висновків, їх поданням у публікаціях, дисертаційна робота Булаєвської Марини Олександрівни відповідає вимогам пунктів 9, 10, 11, 12 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 162 – Біотехнології та біоінженерія з галузі знань 16 – Хімічна та біоінженерія.


Офіційний опонент:

завідувач відділом біофізики та радіобіології
Інституту клітинної біології та генетичної інженерії
НАН України
доктор біологічних наук,
ст. наук. співробітник

О. П. Кравець

« 15 » листопада 2021 р.



Підпис 
ЗАТВЕРДЖУЮ
Учений секретар Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
