

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы «Разработка биореактора на основе эритроцитов человека для удаления аммония из кровотока» Борсаковой Дарьи Валериевны профилю диссертационного совета Д 002.039.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Комиссия в составе д.б.н., проф. Пальминой Н.П., д.б.н., проф. Розенфельда М.А., д.б.н., проф. Зака П.П. – констатирует, что диссертационная работа «Разработка биореактора на основе эритроцитов человека для удаления аммония из кровотока» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 03.01.02 – биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие **основные научные результаты** диссертационной работы и её **новизну**:

В диссертационной работе Борсаковой Д.В. были разработаны и получены впервые эритроциты-биореакторы, основанные на совместной работе двух ферментов глутаматдегидрогеназы из печени быка и аланинаминотрансферазы, а также показана эффективность этих биореакторов в системах *in vitro* и *in vivo*.

В данной работе в результате систематического сравнения различных гипоосмотических методов в качестве наиболее эффективного и щадящего эритроциты метода был выбран метод проточного диализа.

В работе Борсаковой Д.В. впервые была включена в эритроциты глутаматдегидрогеназа бактериального происхождения (из *Proteus sp.*) и впервые показано, что инкапсуляция этого фермента не зависит от концентрации фермента в растворе, что говорит об отсутствии агрегации белка.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа Борсаковой Д.В. представляет собой цельное и хорошо структурированное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном уровне. Работа выполнена на надежном оборудовании с использованием стандартных методик, ранее апробированных в работах других исследователей.

Эффективность работы полученных биореакторов на основе тандема ферментов была исследована в системе *in vitro* методом ионометрии, а затем подтверждена на мышинной модели гипераммонемии *in vivo*. Для исследования формы эритроцитов был использован метод конфокальной микроскопии, который позволил визуализировать и сравнить между собой эритроциты-биореакторы, полученные различными гипоосмотическими методами.

Все полученные в работе результаты подробно обсуждены с привлечением современных научных работ отечественных и зарубежных авторов. Научные положения и выводы диссертации Борсаковой Д.В. обоснованы, достоверны и логически вытекают из полученных экспериментальных данных.

Практическая и научная значимость результатов диссертационной работы

Из результатов работы следует, что полученные эритроциты-биореакторы способны удалять аммоний из среды *in vitro*, либо из кровотока мыши и работают в кровотоке более длительное время, чем ранее известные варианты эритроцитов-биореакторов.

Показано, что использование фермента из *Proteus sp.* с большой удельной активностью и отсутствием агрегации при повышении собственной концентрации в растворе, позволит в дальнейшем получать эффективные дозы эритроцитов-биореакторов с целью применения их в клинике для лечения гипераммониемии.

Основные результаты диссертационной работы изложены в статьях автора, опубликованных в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Атауллаханов, Ф.И. Эритроцит: мешок с гемоглобином или живая, активная клетка? / Ф.И. Атауллаханов, Д.В. Борсакова, Е.С. Протасов, Е.И. Синауридзе, А.М. Зейналов. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2018. – Т. 17. - № 1. – С. 108-116.
2. Кумукова, И.Б. Сравнение лабораторных показателей рентген облученных эритроцитных взвесей и взвесей, полученных из цельной крови, предварительно обработанной ультрафиолетом в присутствии рибофлавина. / И.Б. Кумукова, П.Е. Трахтман, Н.Н. Старостин, Д.В. Борсакова, А.А. Игнатова, А.Ю. Федотов, М.Е. Плахотник, Ф.И. Атауллаханов. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2018. – Т. 17. - № 1.- С. 64-74.
3. Борсакова, Д.В. Сравнительные методологические исследования включения L-аспарагиназы в эритроциты. / Д.В. Борсакова, М.Е. Плахотник, Л.Д. Колева, Е.А. Бовт, Ю.Г. Александрович, Ф.И. Атауллаханов, Е.И. Синауридзе. // Онкогематология. – 2018. – Т. 13. – № 3. – С. 91-101.
4. Борсакова, Д.В. L-аспарагиназа: новые подходы к улучшению фармакологических свойств. / Д.В. Борсакова, Е.И. Синауридзе // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2018. - Т. 17. - № 4. – С. 80-97.
5. Protasov, E.S. Erythrocytes as bioreactors to decrease excess ammonium concentration in blood. / E.S. Protasov, D.V. Borsakova, Y.G. Alexandrovich, A.V. Korotkov, E.A. Kosenko, A.A. Butylin, F.I. Ataulakhanov, E.I. Sinauridze. // Scientific Reports. – 2019. – Т. 9. – № 1455. – P. 1-16.
6. Trakhtman, P.B. The pathogen-reduced red blood cell suspension: single center study of clinical safety and efficacy in children with oncological and hematological diseases. / P. Trakhtman, I. Kumukova, N. Starostin, D. Borsakova, D. Balashov, A. Ignatova, L. Kadaeva, G. Novichkova, A. Rumiantsev. Vox Sanguinis. – 2019. – V. 114. - № 3. – P. 223-231.
7. Борсакова, Д.В. Способы повышения активности глутаматдегидрогеназы в эритроцитах-биореакторах для удаления аммония. / Д.В. Борсакова, Е.С. Протасов, С.В. Назаренко, Ю.Г. Александрович, А.А. Бутылин, Ф.И. Атауллаханов, Е.И. Синауридзе. // Биологические мембраны. – 2019. – Т. 36. - № 3. – С. 192–206.

Помимо вышеуказанного, автором опубликованы тезисы 6 докладов на российских и международных конференциях:

1. Борсакова, Д.В. Использование эритроцитов в качестве носителей лекарственных препаратов. / Д.В. Борсакова, Е.С. Протасов, Ю.Г. Александрович, Т.А. Вуймо, Е.И. Синауридзе, Ф.И. Атауллаханов. // Сборник тезисов II национального конгресса по регенеративной медицине, 3-5 декабря 2015, Москва, М.: МЕДИ Экспо, – С. 28.
2. Borsakova, D.V. The development of a medical device for L-asparaginase loading into red blood cells. / D.V. Borsakova, E.I. Sinauridze, E.S. Protasov, F.I. Ataulakhanov. // The Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 10th SIOP Asia Congress, 25-28 May 2016, Moscow. Abstracts – P. 26.
3. Borsakova, D.V. Erythrocytes as bioreactors for blood ammonia removal. / D.V. Borsakova, E.S. Protasov, Y.G. Alexandrovich, A.A. Butylin, F.I. Ataulakhanov, E.I. Sinauridze. // Book of Abstracts of International Conference and Exhibition on Pharmaceutical Science and Pharmacognosy, 16-18 November 2017, Barcelona, Spain. – P. 31.
4. Protasov, E.S. Analysis of different erythrocytes-bioreactors for decreasing of an excess ammonia concentration in patient blood. / E.S. Protasov, D.V. Borsakova, A.A. Butylin, F. I. Ataulakhanov, E.I. Sinauridze. // Book of Abstracts of International Conference and Exhibition on Pharmaceutical Science and Pharmacognosy, 16-18 November 2017, Barcelona, Spain. – P. 30.
5. Борсакова, Д.В. Эритроцит как лекарственная форма: возможности клинического применения. / Д.В. Борсакова. // Сборник тезисов Международной научно-практической конференции «Трансляционная медицина» 15-17 декабря 2017, Орёл. – С. 15-18.
6. Kumukova, I. Comparison of laboratory parameters of pathogen reduced and irradiated RBC suspension. / I. Kumukova, P. Trakhtman, N. Starostin, D. Borsakova, A. Ignatova, M. Cardoso. // Abstract of the 35th International Congress of the ISBT (Post. 296), 2-6 June 2018, Toronto, Canada. Vox Sanguinis. 2018. – V. 113. (Suppl. 1). - P. 173-174.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168)

Диссертация Борсаковой Д.В. отвечает требованиям пунктов 9, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168)

Диссертация не содержит заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источники заимствования. В диссертации даны ссылки на результаты работ, выполненных Д.В. Борсаковой в соавторстве с Протасовым Е.С., Александрович Ю.Г., Вуймо Т.А., Синауридзе Е.И., Атауллахановым Ф.И., Зейналовым А.М., Кумуковой И.Б., Трахтманом П. Е., Старостиным Н.Н., Игнатовой А.А., Федотовым А.Ю., Плахотник М.Е., Колевой Л.Д., Бовт Е.А., Коротковым А.В., Косенко Е.А., Бутылиным А.А., Назаренко С.В., Балашовым Д. Н., Кадаевой Л. Ж., Новичковой Г. А., Румянцевым А. Г.

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует диссертационному совету Д 002.039.01 принять к защите диссертационную работу Борсаковой Дарьи Валерьевны «Разработка биореактора на основе эритроцитов человека для удаления аммония из кровотока» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве официальных оппонентов:

- доктора биологических наук **Миндукшева Игоря Викторовича**, главного научного сотрудника лаборатории сравнительной физиологии дыхания Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» Российской Академии Наук;

- доктора биологических наук **Миль Елену Михайловну**, ведущего научного сотрудника лаборатории физико-химических основ регуляции биологических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» Российской Академии Наук.

В качестве ведущей организации – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Председатель комиссии:
д.б.н., профессор



Пальмина Н.П.

Члены комиссии:

д.б.н., профессор



Розенфельд М.А.

д.б.н., профессор



Зак П.П.