



Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической
иммунологии»
НИИФКИ

Ядринцевская, 14,
г. Новосибирск, 630099
телефон: (383) 222-26-74, факс: (383) 222-70-28
e-mail: info@niikim.ru
www.niikim.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального
государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»,
доктор биологических наук



А.Н. Силков

2025г

ОТЗЫВ

**о научно-практической значимости диссертационной работы
Галкиной Анастасии Андреевны «Изучение противовоспалительной и
антибактериальной активности соединений на основе фуллерена C₆₀ и
катионных пептидов» на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология»**

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертация Галкиной А. А. «Изучение противовоспалительной и антибактериальной активности соединений на основе фуллерена C₆₀ и катионных пептидов» посвящена одной из ключевых медико-биологических проблем, а именно разработке новых методов терапии воспалительных заболеваний. Рост числа хронических патологий, сопровождающихся развитием чрезмерных воспалительных реакций, увеличение частоты инфекционно-септических осложнений и несовершенство современных

протоколов терапии, в том числе вероятность развития устойчивости к антибактериальным препаратам у патогенов, обуславливают необходимость поиска принципиально иных подходов к лечению.

Для решения данной проблемы автор работы предлагает перспективную стратегию конструирования кандидатных лекарственных препаратов с расширенным спектром биологической активности. С этой целью были получены конъюгаты и комплексы на основе фуллерена C₆₀, обладающего противовоспалительной и регенеративной активностью, и антимикробных пептидов, механизм бактерицидной активности которых существенно снижает вероятность развития устойчивости у патогенов. Комбинирование этих компонентов направлено на преодоление ключевых ограничений традиционной терапии: низкую стабильность пептидов *in vivo* и узконаправленность классических противовоспалительных препаратов. Изучение синергетических механизмов таких соединений углубляет понимание фундаментальных основ регуляции воспаления и открывает пути к созданию препаратов тройного действия, сочетающих противовоспалительные, антибактериальные и регенеративные свойства. Реализация данного подхода способна заложить основу для принципиально новых методов терапии, направленных на снижение летальности от социально значимых патологий, что подчеркивает актуальность диссертационной работы Галкиной А. А.

Соответствие темы диссертации указанной специальности

Содержание диссертации соответствует специальности «3.2.7. Иммунология» (Направление исследований №3: Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты. Направление исследований №4: Исследование роли иммунных механизмов в различных физиологических процессах (регенерации, репродукции, старении, нейроэндокринных взаимодействиях, взаимодействиях

с микробиомом и др.). Направление исследований №5: Изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний. Направление исследований №6: Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов).

Основные результаты диссертационной работы

В диссертационной работе Галкиной А. А. проведено комплексное исследование биологической активности ковалентных конъюгатов и электростатических комплексов на основе фуллерена C₆₀ и антимикробных синтетических пептидов. Автором убедительно продемонстрированы их выраженные противовоспалительные, ранозаживляющие и антибактериальные свойства.

Экспериментальная часть исследования включает тщательный анализ антибактериальных свойств панели синтетических пептидов, в результате которого идентифицированы наиболее эффективные соединения (АВ-14, АВ-17, АВ-18), проявляющие активность против широкого спектра клинически значимых видов бактерий, включая штаммы с множественной лекарственной устойчивостью.

Была установлена способность данных пептидов образовывать стабильные комплексы с фуллереном C₆₀, сохраняя при этом свою биологическую активность. В частности, комплексы К14, К17, К18 сохранили антибактериальную активность исходных компонентов при минимальных бактерицидных концентрациях 0,029 мМ и 0,14 мМ и физиологическом содержании солей. Установлено, что данные соединения малотоксичны в диапазоне концентраций 200-2000 мкг/мл.

Исследование противовоспалительных свойств было проведено на разработанных автором моделях липополисахарид-индуцированного шока *in*

in vivo. Было показано, что терапия комплексами полностью предотвращала гибель животных при введении им LD100 эндотоксина. В ходе работы выявлено, что данный эффект сопровождается модуляцией экспрессии ключевых цитокинов (*Il1rn/Il1b*, *Il10/Tnfa*) и, вероятно, связан с восстановлением физиологического баланса провоспалительных и противовоспалительных медиаторов.

Результаты изучения ранозаживляющих свойств свидетельствуют о комплексном воздействии соединений на все этапы репарации: от купирования воспалительной реакции (угнетение экспрессии генов *Tnfa*, *Il1b*, *Il6*) до стимуляции экспрессии генов факторов ангиогенеза (*Vegf*) и ключевых регуляторов эпителизации (*Il10*, *Tgfb1*). Обнаружена положительная корреляция между уровнями экспрессии гена фактора гипоксии HIF-1 α (*Hif1a*) и гена филаггрина (*Flg*) в кератиноцитах.

Наибольший терапевтический потенциал продемонстрировал комплекс K18, сочетающий антибактериальную активность пептида АВ-18 и противовоспалительную и регенеративную активности фуллерена C60 при сохранении нативной биологической активности исходных компонентов.

Исследование закладывает научные основы для конструирования препаратов с расширенным спектром биологической активности, направленных на коррекцию воспалительного процесса и ускорение заживления раневых дефектов, в частности в условиях бактериальной контаминации. Работа выполнена на высоком научном уровне и имеет значительную практическую ценность.

Достоверность полученных результатов

Результаты исследования обладают высокой степенью достоверности, что подтверждается использованием сертифицированного оборудования с актуальной метрологической аттестацией. Использование непараметрических критериев Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни для статистического анализа

полностью обосновано характером распределения данных и обеспечивает валидность полученных результатов. Методологическая строгость работы, включая контроль качества измерений и адекватный статистический анализ, соответствует современным стандартам доказательной науки.

Научная новизна диссертационной работы

Настоящее исследование характеризуется рядом принципиально новых научных достижений. Впервые описана антибактериальная активность оригинальных катионных пептидов в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных патогенов.

Впервые получены конъюгаты и комплексы фуллерена C₆₀ и катионных пептидов, сочетающие противовоспалительные, ранозаживляющие и антибактериальные свойства. Экспериментально доказан выраженный терапевтический потенциал данных соединений, проявляющийся в значительном снижении летальности экспериментальных животных при моделировании эндотоксического шока *in vivo*.

Впервые выявлена зависимость регенеративной активности фуллерена C₆₀ от структурных особенностей пептидов, входящих в состав конъюгата. При этом доказано, что комплексообразование не нарушает способности фуллерена C₆₀ регулировать экспрессию ключевых генов, участвующих в воспалительных процессах и заживлении ран.

Полученные результаты обладают высокой степенью научной новизны и вносят существенный вклад в развитие современных представлений о терапевтических возможностях наногибридных систем. Исследование открывает новые перспективы для разработки инновационных препаратов комплексного действия.

Теоретическая значимость диссертационной работы

Исследование вносит существенный вклад в понимание динамики провоспалительных (IL-1 β , IFN- γ) и противовоспалительных (IL-1RA) цитокинов на ранних этапах эндотоксического шока, выявляя ранее неизученные паттерны регуляции. Установлена ключевая роль IL-1RA как раннего предиктора благоприятного исхода при сепсисе, а также подтверждено LPS-опосредованное подавление экспрессии генов IFN- γ (*Ifng*) и A2aAR (*Adora2a*), что углубляет представления о молекулярных механизмах шоковых состояний.

Диссертационная работа Галкиной А. А. расширяет теорию применения фуллерена C₆₀, демонстрируя его способность повышать выживаемость мышей при моделировании эндотоксического шока, что сопровождается подавлением экспрессии *Il1b* и активацией экспрессии *Il1rn*. Показано, что в комплексах с катионными пептидами (K14, K18) фуллерен сохраняет биологическую активность, модулируя экспрессию генов провоспалительных цитокинов, ангиогенеза и реэпителизации, что формирует основу для разработки терапевтических агентов с расширенным спектром биологической активности.

Полученные данные обогащают методологическую базу для изучения патогенеза шоковых состояний и создания препаратов комбинированного действия. Полученные результаты обладают существенной образовательной значимостью и могут быть использованы в учебном процессе, а также при подготовке научных публикаций.

Научно-практическая значимость диссертационной работы

Исследование представляет значительный научный и практический интерес благодаря разработке новых конъюгатов и комплексов на основе фуллерена C₆₀ и антимикробных пептидов. Полученные соединения, в частности комплексы, демонстрируют тройную биологическую активность,

сочетая противовоспалительное, регенеративное и антибактериальное действие, в том числе против полирезистентных штаммов клинически-значимых видов бактерий.

Особую ценность представляют созданные экспериментальные модели эндотоксического шока, позволяющие проводить комплексную оценку терапевтической эффективности *in vivo*. Практическая значимость подтверждается внедрением результатов в исследовательскую практику, включая оформление патентных заявок и использование методик в работе научного учреждения.

Полученные данные создают основу для разработки перспективных комбинированных препаратов для лечения воспалительных заболеваний, отягощенных бактериальной инфекцией. Предложенные методологические подходы могут быть экстраполированы на создание других классов терапевтических наноматериалов, что открывает новые направления в нанофармакологии.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Галкиной А. А. изложена на 271 странице машинописного текста, имеет традиционную структуру и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Диссертация проиллюстрирована 87 рисунками и содержит 22 таблицы. Библиография включает 308 источников, из которых 20 русскоязычных и 288 иностранных источников.

В введении диссертационной работы представлено комплексное обоснование актуальности исследования, сформулированы его цели и задачи, а также проведен детальный анализ современного состояния изучаемой проблемы. Автором четко определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, изложены использованные методологические

подходы. Раздел содержит убедительное обоснование достоверности полученных результатов, подробную характеристику личного вклада исследователя и описание структуры диссертации. Все представленные положения логически взаимосвязаны и полностью соответствуют предмету исследования.

В ходе анализа научной литературы автором проведен глубокий систематический обзор современных данных, охватывающий основные направления исследования. Работа включает детальное рассмотрение молекулярных механизмов воспалительного ответа, патогенеза сепсиса и эндотоксического шока, а также фундаментальных процессов репарации тканей. Особое внимание уделено критической оценке современных терапевтических стратегий при воспалительных заболеваниях. Автор провел всесторонний анализ фармакологических свойств фуллерена C₆₀ с акцентом на его противовоспалительные и регенеративные характеристики. Значительная часть обзора посвящена современным представлениям о структуре, классификации и механизмах действия антимикробных пептидов. Заключительным этапом стал перспективный анализ возможностей создания комплексов и конъюгатов на основе фуллерена и пептидов, что позволило определить стратегические направления разработки новых терапевтических агентов.

В разделе «Материалы и методы исследования» подробно описаны методики получения водной дисперсии фуллерена C₆₀, синтеза катионных пептидов и их комплексов. Приведены протоколы культивирования бактериальных и клеточных культур, оценки антимикробной активности и цитотоксичности. Особое внимание уделено разработанным моделям септического шока и раневого поражения *in vivo*. Все методы изложены с детализацией, достаточной для воспроизведения.

В разделе «Результаты» представлены данные комплексного исследования, включающего дизайн антимикробных катионных пептидов с оценкой их антимикробной активности и цитотоксичности, а также анализ

биологической активности конъюгатов и комплексов фуллерена C₆₀ и антимикробных пептидов *in vitro* и *in vivo*. Ключевым аспектом раздела является детальная характеристика противовоспалительных свойств комплексов, выявленных с использованием разработанных моделей эндотоксического шока. Завершающим этапом представлены результаты изучения регенеративного потенциала соединений на модели полнослойного кожного раневого дефекта с оценкой динамики реэпителизации и ангиогенеза.

В разделе "Обсуждение" проведен комплексный анализ экспериментальных данных, раскрывающий механизмы биологической активности исследуемых соединений. Полученные результаты обсуждаются в контексте современных представлений о патогенезе сепсиса, септического шока и раневого воспаления.

В заключении автор анализирует полученные результаты и объясняет фактические данные. Выводы обоснованы результатами исследований и четко сформулированы.

Высокая оценка диссертационного исследования обусловлена его актуальной проблематикой, достоверными экспериментальными данными, значительной научной новизной, весомым теоретическим и практическим вкладом в область знаний, а также строго аргументированными выводами.

Материалы диссертации доложены на российских и международных конгрессах и конференциях. Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 13 печатных работах, в том числе 5 статьях в рецензируемых периодических научных изданиях, рекомендованных для публикации основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций, 3 патентах и 5 публикаций в сборниках материалов конгрессов и конференций.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Галкиной Анастасии Андреевны «Изучение противовоспалительной и антибактериальной активности соединений на основе фуллерена C₆₀ и катионных пептидов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для иммунологии: изучена противовоспалительная, ранозаживляющая и антибактериальная активность комбинированных соединений фуллерена C₆₀ и антибактериальных катионных пептидов; расширены фундаментальные представления о регуляции иммунных процессов; продемонстрирована перспективность фуллерен-пептидных комплексов как основы для разработки новых препаратов для терапии воспалительных заболеваний, осложненных присоединением бактериальной инфекции. Научная ценность исследования подтверждается значительным массивом достоверных экспериментальных данных, использованием современных методик и общепринятых методов математической статистики, гарантирующих обоснованность и актуальность выводов.

Диссертационная работа Галкиной А. А. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в ред. постановления Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. №1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. №426, от 11.09.2021 г. №1539, от 26.09.2022 г. №1690, 26.01.2023 г. №101, 18.03.2023 г. №415, 26.10.2023 г. №1786, от 26.01.2023 г. №101, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 №1382), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология».

Отзыв обсужден и утвержден на расширенном заседании лабораторий клинической иммунопатологии, молекулярной иммунологии и экспериментальной иммунотерапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», протокол № 9 от 16 октября 2025 г.

Главный научный сотрудник
лаборатории молекулярной
иммунологии НИИФКИ,
доктор медицинских наук,
профессор

«16» октября 2025г.

Ирина Анатольевна Орловская

Подпись И.А.Орловской заверяю:

Учёный секретарь НИИФКИ, к.б.н.

«16» октября 2025г.



Елена Давидовна Гаврилова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Адрес: 630099, Новосибирская обл., г. Новосибирск, ул. Ядринцевская., дом 14, тел. +7(383) 222-26-74, официальный сайт: www.niikim.ru, e-mail: info@niikim.ru