

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
им. академиков М.М.ШЕМЯКИНА и Ю.А.ОВЧИННИКОВА  
Российской академии наук (ИБХ РАН)**

**СТЕНОГРАММА**

Заседания диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН  
14 марта 2018 года

Защита диссертации  
на соискание учёной степени кандидата химических наук

**Кашириной Еленой Игоревной**

«Разработка системы гипоаллергенной упаковки белков  
в полимерный матрикс»

по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Москва 2018

## СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН  
14 марта 2018 года

Заместитель председателя диссертационного совета  
Доктор физико-математических наук

Р.Г. Ефремов

Учёный секретарь диссертационного совета  
доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

Из 30 членов совета присутствует 23 человека, из них докторов по профилю диссертации – 8. Кворум имеется.

1. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
3. Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
4. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5. Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03)
6. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7. Член-корр. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
8. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
9. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
10. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
11. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
12. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
13. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
14. Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
15. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
16. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
17. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
18. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
19. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
20. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
21. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
22. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
23. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

**Ефремов Роман Гербертович:** Уважаемые коллеги! Предлагаю начать заседание диссертационного совета. Прошу перейти к слушанию по

защите Кашириной Елены Игоревны. Владимир Александрович, расскажите, пожалуйста, сообщите информацию о деле по этой диссертации.

**Олейников Владимир Александрович:**

*(Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что материалы личного дела и документы предварительной экспертизы соответствуют требованиям Положения ВАК).*

**Ефремов Роман Гербертович:** Так, нет ли у членов диссертационного совета, у присутствующих, каких-нибудь особых мнений по доложенной информации? Если нет, тогда, соискатель, Елена Игоревна, пожалуйста, вам 20 минут для представления основных результатов работы.

**Каширина Елена Игоревна:**

*(Излагает основные положения диссертационной работы)*

**Ефремов Роман Гербертович:** Вопросы, пожалуйста?

**Дзантиев Борис Борисович:** Будьте добры, скажите, пожалуйста, а вот скорость высвобождения вы примерно понимаете? С какой скоростью у вас из полимерной матрицы выходит антиген?

**Каширина Елена Игоревна:** Ну, Вы знаете, мы проводили ряд опытов в клеточной модели и смотрели деградацию полимеров в клетках. Показали, что за 72 часа происходит полное процессирование этих частиц. Так как они состоят из полисахаридов, в организме есть специальные ферменты, в том числе хитоназа, гидролазы и другие, для того, чтобы была возможность расщепить данные частицы.

**Дзантиев Борис Борисович:** Т.е. трое суток и у вас уже полностью высвобождаются антигены?

**Каширина Елена Игоревна:** да

**Дзантиев Борис Борисович:** Спасибо.



**Ефремов Роман Гербертович:** Если позволите, я тоже задам вопрос. Скажите, пожалуйста, насчет научной новизны, то есть, вы впервые в мире этот подход применили?

**Каширина Елена Игоревна:** Ну, Вы знаете, в литературе уже были опубликованы работы по созданию двухслойных частиц, но мы впервые применили их для упаковки аллергенов, и, таким образом, мы, можно сказать, разработали метод, для того, чтобы применять его в аллергенспецифической иммунотерапии. До этого, были опубликованы работы, где включали ДНК, или для других целей.

**Ефремов Роман Гербертович:** Ну а как вы считаете, с чем связано то, что в мире, ну, как то не очень поэтому пути идут, возможно, есть другие варианты применения этой терапии? Частицами, какими то фрагментами белков, пептидами там.

**Каширина Елена Игоревна:** Есть, конечно. Во-первых, сами белки немножко модифицируют, и вырезают у них участки, так чтобы они были не иммуногенными, но, во-первых, это достаточно дорого, разрабатывать для каждого белка, а в нашем случае можно просто экстракт аллергена, не обязательно рекомбинантные белки, помещать, упаковывать в такие частицы.

**Ефремов Роман Гербертович:** То есть вы предполагаете, что предлагаемая вами технология существенно лучше, эффективнее, экономичнее чем то, что в мире используется.

**Каширина Елена Игоревна:** Я считаю, что да.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Еще один у меня вопрос. Вы указывали, что размеры частиц определяли по динамическому светорассеянию. На одном слайду у вас белок, конъюгированный с хитозаном, имел диаметр примерно 440 нм...

**Каширина Елена Игоревна:** Это в методе электроспрея. Когда мы распыляем частицы, они получаются крупнее. А когда метод самосборки, когда модификацию вносили в хитозан, там они сами собирались в растворе, там меньше получались.

**Ефремов Роман Гербертович:** Там 200 нанометров, да еще и с оболочкой.

**Каширина Елена Игоревна:** Да, с оболочкой 200, а без оболочки где-то 100-150, там разброс, конечно.

**Ефремов Роман Гербертович:** понятно, спасибо. Так, пожалуйста, Владимир Виленович.

**Безуглов Владимир Виленович:** Я хотел бы вас попросить уточнить, вы использовали 2 разных подхода, один связан с химической модификацией хитозана, а другой с нативным хитозаном. Вы могли бы оценить, по результатам ваших экспериментов, какой метод имеет преимущество и может дальше пойти в разработку препаратов.

**Каширина Елена Игоревна:** Я бы сказала, что удобны оба метода, потому что, с одной стороны и химический, я бы сказала, с одной стороны он более продолжительный, в течение недели мы получаем частицы из-за стадий модификации, а с другой стороны установки электрофоретические все-таки дорогие, поэтому... Но мы сравнивали частицы, как полученные электроспреем, так и методом самосборки, как *in vitro*, так и *in vivo*, у них одинаковые эффекты. Но вопрос в том, что будет дешевле...пока для нас не понятно.

**Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги, еще есть вопросы?

**Овчинникова Татьяна Владимировна:** Маленький таков вопрос: почему все-таки хитозан? Это очень такой популярный вариант использования полимерной матрицы, но ведь нет до сих пор разрешения на его медицинское применение, насколько я понимаю, он дешевый, конечно, хороший продукт, все им пользуются, все очень любят бороться с хитозанами, но фармакопейная статья на него, собственно...



**Каширина Елена Игоревна:** Ну Вы знаете, у меня один из вопросов оппонентов как раз посвящен ответу на этот вопрос, позвольте зачитаю. Использование хитозана для парантерального применения разрешено в ряде стран, например, в Китае, и ведутся испытания в ряде других стран. Но практически во всех странах разрешено непарантеральное применение хитозана, в том числе, в нашей работе мы испытывали трансэпидермальную доставку, которая оказалась эффективной в нашей модели.

**Ефремов Роман Гербертович:** Так, коллеги, если вопросов больше нет, то, пожалуйста, присаживайтесь. Теперь пришло время заслушать, поступившие в совет, письменные отзывы и отзыв ведущей организации, Владимир Александрович.

**Олейников Владимир Александрович:**

*(Зачитывает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).*

Так, отзыв ведущей организации поступил в диссертационный совет. Ведущей организацией является Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава Российской Федерации. Отзыв полностью положительный, ну, во-первых, он, естественно, начинается с актуальности темы выполненной работы, и они пишут: «диссертационная работа Кашириной Е.И. посвящена актуальной тематике - разработке безопасных и эффективных препаратов для специфической иммунотерапии аллергии I типа.... решение проблемы аллергии I типа является актуальной проблемой здравоохранения.

Оценка содержания и оформления работы. В данной работе предлагается решение по предупреждению дегрануляции тучных клеток при проведении АСИТ за счет покрытия аллергена полимерной оболочкой, что предупреждает взаимодействие аллергена с IgE антителами. Данный подход позволит сократить количество введений аллергенов при АСИТ, увеличить

разовую дозу вводимого аллергена, предупредить развитие побочных реакций, и, в идеале, быстро достичь терапевтического эффекта.

Работа построена традиционно, изложена на 149 страницах и содержит разделы: классические «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и их обсуждение», «Выводы» и «Список цитируемой литературы», включающий 245 ссылок на источники.

В обзоре литературы кратко описаны механизмы аллергической реакции I типа, методы лечения аллергии и разновидности АСИТ. В разделе «Материалы и методы» детально описан широкий спектр методов исследования, и наконец, раздел «Результаты и их обсуждение» состоит из трех глав. Первая глава посвящена получению и характеристике производных хитозана с заданными свойствами, методам получения на их основе нано- и микрочастиц, капсулированию модельных белков в микрочастицы. Во второй главе диссертантом проведены исследования *in vitro*. И, наконец, третья глава посвящена изучению иммунного ответа на разработанные антигенсодержащие частицы. Надо отметить общий высокий уровень диссертационной работы Кашириной Е.И. и хорошее представление полученных результатов в диссертации и автореферате. Работу отличает четкость постановки задач и оптимальность методов ее решения.

Работа проведена с использованием методов статистической обработки результатов. Выводы, полученные при анализе результатов исследований, логичны и обоснованы и соответствуют содержанию диссертации.

Насчет научной новизны. В работе впервые получены капсулированные аллергены и доказано, что такая форма предотвращает связывание IgE с аллергенами, что имеет большую практическую значимость для здравоохранения. На примере аллергенов из двух источников впервые показано, что капсулированную форму можно разработать для любых аллергенов. На примере двух белков из каждого источника впервые показано, что при иммунизации распознается каждый из капсулированных белков, что позволяет создать мультивалентные вакцины, позволяя



проводить АСИТ против нескольких аллергенов одновременно. Впервые показано, что капсулированные аллергены вызывают после 1-3-х иммунизаций значительный антительно опосредованный гуморальный ответ без введения дополнительных адъювантов, что имеет значение для разработки вакцин, в которые не требуется дополнительно включать адъюванты. Впервые получены капсулированные в хитозан аллергены методом электроспрея.

Опубликованы 7 статей, опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации.

Ну и, наконец, недостатки. Оценивая работу в целом, следует подчеркнуть, что диссертантом выполнена большая аналитическая и экспериментальная работа на хорошем методическом уровне и результаты вполне значимы.

Наряду с общей высокой положительной оценкой работы, к ней имеется несколько замечаний, пожеланий и вопрос:

1. В первой главе раздела «Результаты и их обсуждение» следовало бы сначала изложить данные по получению микрочастиц двумя методами (самосборкой и электроспреем), а затем поместить данные по включению модельных белков, что облегчило бы восприятие работы;
2. В подписях к рисункам встречаются сокращения, что затрудняет восприятие материала.
3. В списке литературы встречается мало отечественных литературных источников, хотелось бы, чтобы отечественные работы были лучше освещены.

Не хватает обоснования факта проникновения отрицательно заряженных нано- или микрочастиц производных хитозана в клетку. Традиционно считается, что положительно заряженные молекулы легко взаимодействуют с отрицательно заряженной мембраной клеток и легче проникают в клетку.



Отмеченные недостатки не снижают достоинств выполненной работы и, в целом, можно считать, что рецензируемая диссертация представляет собой актуальное, законченное исследование, выполненное на высоком научном уровне и имеющее практическое значение».

Ну и в заключении пишется, что «диссертационная работа Кашириной соответствует требованиям положения «О присуждении ученых степеней» и автор диссертации несомненно заслуживает присвоения степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Обсужден и одобрен отзыв на заседании кафедры иммунологии медико-биологического факультета и подписано профессором кафедры иммунологии, доктором медицинских наук, Стениной. Ну и, соответственно, этот отзыв утвержден проректором Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава Российской Федерации, подписано проректором.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Владимир Александрович. Елена Игоревна, в отзыве был высказан ряд замечаний, пожалуйста, ответьте на них.

**Каширина Елена Игоревна:** По поводу замечания о том, что в разделе «Результаты и обсуждения» следовало бы сначала изложить данные о получении микрочастиц двумя методами, а затем поместить данные по включению модельных белков, я могу ответить следующее. Замечание связано с тем, что описание метода получения частиц с помощью электроспрея приведено после описания полного цикла получения частиц с включенным белком методом самосборки. Я согласна, что можно было бы расположить данные по электроспрею сразу после описания получения таких частиц, но данные расположены хронологически.

По поводу того, что не хватает факта проникновения отрицательно заряженных частиц в клетку. Данный вопрос исключительно спорный и активно обсуждается в мире. Наша группа детально занимается изучением транспорта разнозаряженных производных хитозана в клетку. Наши данные показывают обратное, что отрицательно заряженные частицы хорошо проходят в клетку, в то время как положительно заряженные остаются на мембране клетки или сбрасываются с нее.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, слово предоставляется научному руководителю.

**Свищевская Елена Викторовна:** Уважаемые коллеги, Лена пришла к нам в лабораторию для выполнения дипломной работы, её успешно выполнила, заняла первое место среди дипломников своего потока, делала она эту же работу, и, таким образом, это уже 6 лет потраченных на выполнение этой работы. В этом году она получила «Умника» на разработку трансэпидермальных вакцин. Таким образом, за 6 лет проделана огромная работа и достигнут, с моей точки зрения, очень хороший результат. И мы надеемся, что в дальнейшем она сможет довести это до клиники. Как человек, она очень контактный, комфортный, талантливый не только в науке, даже, может, более чем в науке, и в других областях, что, может быть, позволит ей довести до клиники эти вакцины, грамотный, легко осваивает новые методы, очень быстрый и в работе, иногда её не поймаешь, она уже все сделала. Осваивает и освоила она всё... Она пришла к нам из химического факультета, знала химию, за это время освоила биологические методы, культуральную работу, конфокальную микроскопию и прочее, и прочее, то есть легко осваивает, легко ориентируется в мире, контактна, социализирована, помогает легко аспирантам и студентам из нашей лаборатории, мне было приятно работать с ней все эти годы, я ей желаю удачи.

**Ефремов Роман Гербертович:** Владимир Александрович, поступили ли отзывы на автореферат?



**Олейников Владимир Александрович:** Да, в совет поступило 3 отзыва на автореферат, все отзывы положительные, есть некоторые указания недостатков, на это я хочу обратить внимание.

*(Зачитывает отзывы, отзывы положительные, отзывы прилагаются).*

Значит первый отзыв, он полностью положительный, в частности пишется что, подчеркивается достоверность результатов, адекватность и внутренняя непротиворечивость сформулированных выводов. То, что полностью соответствует паспорту специальности 03.01.06 – биотехнология, в том числе бионанотехнологии. В качестве основных замечаний по тексту автореферата необходимо отметить следующее:

1. На рисунке 2А приведено не звено хитозана (как утверждается в подрисуночной подписи), а соответствующий моносахарид, полимером которого является хитозан. Очевидно, следовало бы указать положения, через которые идет сочленение цепи, особенно в контексте анализа ЯМР  $^1\text{H}$  спектров хитозана и лаурилсукциноилхитозана.

Это первое и второе:

2. При обсуждении данных о распределении частиц по размерам следовало указать, о каком типе распределения идет речь: распределение по числу или по объему.

Однако данные замечания относятся лишь к терминологии и не являются существенными, а в целом, значит, все соответствует. Подписано: профессор учебно-научного центра «Биоматериалы» Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Ярослав Олегович Межуев.

Это первый, соответственно отзыв. Отзыв на автореферат второй.

Ну, подчеркивается практическая значимость работы, большое количество современных методов исследования, новизна результатов и подписано руководителем группы биомедицинских материалов: ведущий

сотрудник, доктор химических наук, это наш институт, Елена Арнольдовна Марквичева.

И, наконец, третий отзыв на автореферат, опять же, благоприятное впечатление работа производит, представляет из себя большое по объему научно-квалификационное исследование, выполненное на актуальную тему, включающее необходимые элементы научной новизны и практической значимости. Имеются стилистические погрешности в тексте, что не снижает качество научной работы. И опять же, это старший научный сотрудник лаборатории инженерии биополимеров, кандидат химических наук, Лопатин Сергей Александрович, это институт биоинженерии Федерального государственного бюджетного исследовательского центра «фундаментальные основы биотехнологии» РАН. Ну, три положительных отзыва, в одном из них фактические....

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Владимир Александрович. Елена Игоревна, в отзыве был высказан ряд замечаний, пожалуйста, ответьте на них.

**Каширина Елена Игоревна:** По поводу замечания о подписи к картинке, я, безусловно, согласна с ним, действительно изображено звено полисахарида хитозана, а по поводу динамического светорассеяния, могу сказать, что все данные проводились, оценивались по интенсивности частиц. С замечаниями согласна.

**Ефремов Роман Гербертович:** Извините, а что значит интенсивность частиц?

**Каширина Елена Игоревна:** На аппаратуре, которая есть в нашем институте Brukhaven Zetapals...

**Ефремов Роман Гербертович:** Изучение рассеяния короче, понятно.

**Каширина Елена Игоревна:** Да, там было, просто, 2 метода – можно по количеству частиц мерить, а можно по интенсивности, мы выбрали именно по интенсивности измерения.



**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Переходим к дискуссии, слово предоставляю официальному оппоненту Кильдеевой Наталии Рустемовне, доктору химических наук, профессору, заведующей кафедрой химии и технологии полимерных материалов и композитов Российского государственного университета имени Косыгина «Технологии, дизайн искусство».

**Кильдеева Наталия Рустемовна:** *(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).*

Здравствуйте уважаемые коллеги! Хочу поблагодарить ученый совет за возможность выступить и прорецензировать работу, которая мне показалась очень интересной, красиво построенной и в результате которой получены очень значимые и практически важные результаты.

Перед диссертантом стояла задача довольно сложная, потому что эта задача, с одной стороны, повисить безопасность иммунотерапии, а с другой стороны увеличить её интенсивность. Учитывая механизм формирования иммунного ответа при аллергии, понятно, что такая постановка вопроса и решение такой задачи, не очевидно, что с этим можно справиться. Но Елена Игоревна, успешно справилась с такой работой, за счет того, что она выстроила некий барьер между аллергеном и антителом, путем конструирования наночастиц, и, в принципе, такой подход капсулирования белков в полисахаридные частицы, он как бы применяется, особенно в разработках, довольно широко. И обычно, чаще всего, это метод, основанный на взаимодействии противоположно заряженных полисахаридов или каких то других природных полимеров и при этом обычно формируются микрочастицы.

Для получения наночастиц, нужны, в общем-то, особые подходы и для того, чтобы сформировать наночастицы нужного размера, необходимого диаметра, для того, чтобы вообще была возможность сформировать эти частицы, необходимы очень специфические свойства вот этой молекулы полисахарида.

Ну, хитозан... как уже говорила диссертант, у него помимо свойств, которые обеспечивают перспективы его биомедицинского применения, а на самом деле, он же используется и в качестве каких-то раневых покрытий, и даже для местного применения, и, в общем-то, сейчас ведутся испытания и для интраназального применения и некоторых других видов, и за рубежом и у нас в стране. Ну вот помимо таких перспектив биомедицинских, связанных с биодegradабельностью, биосовместимостью, собственными видами биологической активности многочисленными, он еще содержит в каждом элементарном звене первичную аминогруппу, благодаря которым работать с ним очень удобно и приятно. Ну, это в каждом элементарном звене... для того, чтобы гидрофильно-липофильный баланс организовать у этой молекулы такой, чтобы она самопроизвольно собралась в частицу нужного размера, да еще могла заодно конъюгировать и с белком - вот это очень сложная химическая задача, которая очень успешно была решена в этой работе.

На самом деле, здесь многое осталось за кадром, потому что были синтезированы самые разные производные с различной степенью замещения и помимо такой хорошо сформулированной научной новизны в этой работе, здесь явно просматривается такая классическая фундаментальная задача, которую успешно решил диссертант – это взаимосвязь строения, химического строения, структуры, свойств.

В зависимости от строения производного хитозана, были сформированы наночастицы различные по размеру, по структуре поверхности, что было достоверно доказано и показано с использованием различных методов. Вообще, достоверность этой работы требует особого внимания. Заслуживает, потому что абсолютно всё, что постулирует в своей работе диссертант, всё это доказано с использованием различных методов, очень взаимодополняющих методов, особенно, что касается структуры поверхности, биохимических исследований, в общем, очень достоверные результаты. Кроме того, в работе проведена математическая обработка, в



общем, достоверность таких значительных, полученных ею результатов, не вызывает никаких сомнений.

Ну, помимо вот такого способа, изящного способа получения, включения в наноразмерные образования модельных белков-аллергенов, был использован, казалось бы, более простой способ. Это способ электрораспыления. Ну, собственно говоря, такие способы модификации полимерных материалов, в ряде которых могут быть электроформирование волокон, электрораспыление, кажутся такими простыми – создать разность потенциалов и заряженный раствор будет распыляться в виде частиц. Но это не совсем так, потому что вот таким способом электроспрея, как правило, получают, во-первых, частицы микронного размера, а не субмикронного, и, особенно, в случае полисахаридов очень сложно подобрать такие условия, при которых, с одной стороны, будет необходимая концентрация для формирования частиц нужного размера, а с другой стороны, этот раствор должен обладать определенной вязкостью. Вот, чувствуется, большая экспериментальная работа за такими сухими данными, но, тем не менее, успешность была показана, доказана, в этой работе.

Ну, как любая работа, как бы, не лишена недостатков, и тут какие-то уже прозвучали, но честно говоря, таких каких-то принципиальных недостатков, которые бы порочили научную новизну, или вообще работа бы не нравилась, я вот не обнаружила таких. И, в общем-то, так как оппонент должен показать, что он очень внимательно отнесся к работе, я несколько таких, даже не недостатков, но, может быть, с моей точки зрения, что-то можно было сделать иначе.

Во-первых, способ изложения работы для меня был непривычен. Очень подробно была обоснована не только методология работы, и даже методики, пусть, но в данном случае были обоснованы ну вот каждый из компонентов. Не только это белки или полисахариды, основные объекты исследования, а типа там состав буферных растворов, растворителя, рН среды и так далее. С одной стороны, я понимаю, это указывает на тщательность исследования,

выполненного диссертантом, и на такие положительные свойства самого экспериментатора. Но с другой стороны, это затрудняет восприятие при чтении, поскольку маскирует значимые результаты, которые получены в работе.

В то же время, часть выполненной работы явно осталась за пределами диссертации, что не всегда выглядит обоснованно. Ну, например, тут указана страница.... «для получения конструкций оптимального размера ... реакцию следует проводить при следующих условиях», однако, сами исследования не приводятся. Диссертант использует способ изложения материала с подробным обоснованием не только методологии и методик, но и каждого из используемых компонентов, вплоть до растворителей, буферных растворов, рН-среды и т.п. С одной стороны, это указывает на тщательность постановки эксперимента, но с другой, затрудняет восприятие материала, маскируя значимые результаты.

Из текста диссертации очевидно, что часть выполненной работы осталась за пределами диссертации, что не всегда обосновано. Например, на стр. 98 «В процессе исследований было установлено, что для получения конструкций оптимального размера ... реакцию следует проводить при следующих условиях», сами исследования, на основании которых это установлено, не приводятся.

«Увеличение процентного содержания этанола в растворителе способствует повышению вязкости раствора». Вязкость раствора вообще не упоминается, и не известно, какая вязкость, сами исследования не приведены, ну вот «низкая вязкость» вместо цифр. Тут хороший метод формирования частиц происходит при диализе водно-спиртовых растворов, когда спирт заменяется на воду, и вот в этот момент формируются наночастицы. Вот такой, вообще-то, интересный метод, но я лично не поняла из работы, является ли он, прерогативой автора, разработана автором, или, если нет, ссылок никакой нет на работу. Ну, опечатки, это понятно, неудачные выражения. Например, в таблице 6 указан размер частиц, средний



размер частиц, и он указан 50-1280 нм, ну вообще интервал такой большой, ну и это не средний размер частиц.

«Хитозан является производным хитина, природного поликатиона». Поликатионом является хитозан, а не хитин.

Ну, я говорила что, в общем-то, работа производит самые-самые благоприятные впечатления и по тому, как она выполнена и по методам, методике, методологии, практическая значимость заключается не только в разработке капсулированной вакцины, но и в том, что этот разработанный подход можно использовать для капсулирования различных белков, тем более, для получения вот таких наноразмерных наночастиц, которые можно вводить в виде инъекций, трансэпидермально и еще какими-то способами, т.е. маленьких частиц.

Я считаю, что работа, представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук является законченной квалификационной работой, в ней решается очень важная и практическая задача, создание новых биополимерных конструкций, безопасных и эффективных для аллергенспецифической терапии.

Работа соответствует в части формулы специальности и области исследований, и диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо большое, Наталия Рустемовна. Так, были замечания, Елена Игоревна, пожалуйста.

**Каширина Елена Игоревна:** Я, естественно, согласна с большинством замечаний, особенно по поводу того, что некоторые части работы изложены излишне подробно. А по поводу того, что некоторые части работы, наоборот, пропущены, я могу ответить следующее: по данной работе я также писала дипломную работу, поэтому часть данных мы не приводили в диссертационной работе, а так же часть негативных мы так же решили не описывать, не приводить, поэтому в основном привели позитивные.

По поводу того, что ничего не сказано о вязкости. Дело в том, что вязкость здесь являлась, для получения частиц электроспреем, второстепенным параметром, и мы подбирали её экспериментально.

По поводу того, что не указано, является ли метод самосборки частиц при диализе из спиртовой среды в водную, разработанным нами или есть в литературе. Ну, на самом деле, мы догадались до него сами, но когда нам прислали вот замечания по этому поводу, мы посмотрели, естественно, в Science direct и увидели, что есть такие методы получения частиц самосборкой. С остальными замечаниями я согласна.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Наталия Рустемовна, Вы удовлетворены ответами соискателя?

**Кильдеева Наталия Рустемовна:** Да, вполне.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Следующим оппонентом является Кедик Станислав Анатольевич, доктор технических наук, профессор Заведующий кафедрой биотехнологии и промышленной фармации Московского технологического университета. Он отсутствует, находится в командировке, поэтому отзыв его зачитает Владимир Александрович.

**Олейников Владимир Александрович:** *(Зачитывает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).*

Да, мы получили отзыв официального оппонента на работу Кашириной Елены Игоревны, отзыв полностью положительный, но опять же значит, уже много говорились, актуальность исследования. Вот что хочется подчеркнуть.

В диссертационной работе Кашириной Елены Игоревны была предложена новая концепция получения препаратов для АСИТ, представляющая собой упаковку основных рекомбинантных белков-аллергенов в оболочку из биосовместимых, биоразлагаемых, нетоксичных полимеров.

Диссертационная работа Кашириной Елены Игоревны является цельным, самостоятельным научным исследованием, в котором впервые предложен способ получения безопасных и эффективных препаратов для



АСИГ. Традиционная форма отражается, 245 наименований литературный обзор, основные результаты диссертационной работы тут изложены хорошо, из наиболее значимых результатов можно выделить следующие:

1. Разработан метод получения наночастиц на основе производных хитозана методами самосборки и электроспрея;
2. Методом самосборки в наночастицы лаурисулцинилхитозана-альгината включены белки из аллергенов КДП *D. farinae* и гриба *A. fumigatus*;
3. Показано, что капсулированные аллергены не связывают IgE из сывороток больных.

Замечания: тем не менее, по диссертации имеется ряд замечаний:

1. Работа содержит орфографические ошибки и стилистические неточности.
2. Большинство рисунков выполнено на высоком уровне, однако встречаются исключения, в частности на рисунках 11, 15, 19 подписи на рисунке и масштаб не читаются
3. Ссылки в тексте на рисунки и сами рисунки 3 и 4 не совпадают по смыслу, приведен рисунок 9, но не хватает его описания или расшифровки в тексте.
4. В диссертации недостаточно подробно приведены методы и параметры, используемые в расчетных методах, на некоторых рисунках не приведены разбросы величин.
5. В диссертации предлагается использование хитозана в качестве материала для медицинского применения, но на этот материал нет фармакопейной статьи, т.е. применение его в медицине не разрешено.

Отмеченные недостатки не снижают общей оценки рецензируемой работы. По теме диссертации опубликовано 19 работ, из них 7 статей в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций.

Ну и в заключение подчеркивается, что диссертационная работа Е.И. Кашириной соответствует паспорту специальности, а сама Каширина

заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по этой специальности.

Ну и официальный оппонент зав. кафедрой биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий Кедик Станислав Анатольевич, доктор технических наук, профессор.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, пожалуйста, Елена Игоревна, ответьте на замечания.

**Каширина Елена Игоревна:** По поводу стилистических неточностей и подписям к картинкам, естественно, я согласна с этими замечаниями. Основной недостаток по содержанию касался того, что хитозан не зарегистрирован в качестве парантерального применения в России. Я уже отвечала на этот вопрос, но могу ответить еще раз.

**Ефремов Роман Гербертович:** Нет, мне кажется, что если вы уже отвечали, то вопрос снимается. Спасибо. Так коллеги, предлагаю начать публичную дискуссию, кто хочет высказаться об этой диссертации, пожалуйста, возьмите слово. Ну, хочу напомнить, что и руководители имеют право еще раз выступить. Ну вот, Виталий Павлович, первым попросил слово.

**Свищевская Елена Викторовна:** Да, как руководитель и инициатор этого всего.

**Зубов Виталий Павлович:** Мне хотелось бы обратиться к диссертационному совету с просьбой поддержать эту работу, не потому что я в ней участвую, и она является, как бы, совместным продуктом двух лабораторий, когда каждая вносила свой пассивный вклад, а в результате, получился результат, который был бы непосилен каждой из лабораторий по отдельности. Иммунологи не создали бы такие частицы, не научились бы паковать, а мы конечно, не смогли бы изучить все химические реакции, где задействован гуморальный ответ, клеточный и т.д. Я бы хотел просто обратить внимание, что сейчас тенденция, которую излагал Александр



Габибович в своем выступлении об укрупнении работ, создании комплексных тем, что вот это - пример как раз такого подхода. Мы очень рады, что оказались здесь, как говорится, в струе. И, вот я считаю, что Елена Игоревна, которая сумела освоить такой комплекс разнообразных и непохожих по своему происхождению и стилю исполнения методов, она, конечно, заслуживает, присвоения искомой степени, спасибо.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Виталий Павлович. Коллеги, кто еще хотел бы поучаствовать в дискуссии? Ну, если больше желающих выступить нет, тогда слово предоставляется соискателю, заключительное слово, пожалуйста.

**Каширина Елена Игоревна:** Я, конечно, хотела бы выразить особую благодарность, как заведующим, так и коллегам лабораторий, в которых я занималась, а так же своей руководительнице, Свирцевской Елене Викторовне. Так же в работе мне помогали, естественно, мои родители и муж. Большое спасибо вам за помощь, я добилась всего благодаря вам. Так же спасибо институту биоорганической химии за предоставленную возможность защитить здесь кандидатскую диссертацию. Большое спасибо.

**Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, уважаемые коллеги. Предлагается для тайного голосования следующий состав счетной комиссии. Татьяна Николаевна Овчинникова, Лев Павлович Патрушев и Владимир Александрович Олейников. Есть ли возражения, отводы, самоотводы? Считаем, что состав счетной комиссии избран. Теперь прошу всех членов совета ознакомиться с проектом заключения по диссертации, есть ли у кого замечания, предложения... Ну есть еще время подумать, можем вернуться к этим замечаниям, если они возникнут в течение нашего сегодняшнего заседания. На этом, защиту позволяйте считать законченной.

*(Проходит тайное голосование по диссертации).*

**Ефремов Роман Гербертович:** Так, Владимир Александрович, доложите, пожалуйста, результаты голосования

**Олейников Владимир Александрович:** Счетная комиссия отработала. Значит, Каширина Елена Игоревна. Присутствовали на заседании 23 члена совета, роздано бюллетеней 23, оказалось в урне 23, результаты голосования: «за» - 22, «против» - нет, «недействительных» - 1. То есть это у нас все в порядке.

**Ефремов Роман Гербертович:** Уважаемые коллеги, предлагаю утвердить результаты голосования, кто за, против, воздержался? Позвольте тогда поздравить соискателей с успешной защитой!

*(Проходит голосование по проекту заключения. Заключение принято единогласно)*

**Ефремов Роман Гербертович:** Позвольте на этом закрыть заседание диссертационного совета. Всем спасибо за плодотворную работу!

Заместитель председателя  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Ефремов Р.Г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

