

## ОТЗЫВ

### ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу **Чайки Владимира Викторовича** «Влияние разных типов наночастиц на устойчивость организмов с разным уровнем организации с целью определения их ответных реакций и порога устойчивости», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.15. – экология

#### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Наноматериалы и нанотехнологии прочно вошли в жизнь современного общества в виде обширного ряда полезных приложений, включая использование в электронике, энергетике, химической и пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицине. Разработаны и внедрены в производство многие тысячи искусственных наноматериалов, состоящих из наночастиц, нановолокон, нанотрубок, нанопластин и других объектов с характерным размером по одному или нескольким измерениям менее 100 нм. Особые свойства наноматериалов, определяющие их полезное применение, заключаются в том, что в данном диапазоне размеров сочетаются эффекты, обусловленные физическими классическими и квантовыми закономерностями. Наряду с энтузиазмом, вызванным многообещающими областями практического применения нанотехнологий, имеется и озабоченность, связанная с потенциальными рисками её продукции для здоровья человека и состояния окружающей среды. Токсические свойства наночастиц и нанообъектов определяются, в конечном счете, их малыми размерами, откуда вытекает их повышенный химический потенциал, каталитическая и реакционная способность, возможность проникновения через биологические мембраны и физиологические барьеры.

Несмотря на более высокую растворимость (по сравнению с веществами в виде сплошных фаз), многие наночастицы, как показано в настоящее время, способны к длительной персистенции в организме и циркуляции в составе объектов окружающей среды. Этот факт становится особенно значимым в свете тех обстоятельств, что многие наноматериалы, такие как металлооксидные наночастицы, наночастицы серебра, углеродные нанотрубки (УНТ) и нановолокна (УНВ), наноглинистые материалы (включая цеолиты) производятся промышленностью в количестве тысяч и десятков тысяч тонн и выбрасываются в окружающую среду как преднамеренно (например, в составе агрохимикатов, средств культивации почв, водоочистки), так и в составе отходов производства. Поэтому большую озабоченность вызывает возможное неблагоприятное воздействие искусственных наночастиц и других нанообъектов на природные экосистемы. Такое неблагоприятное действие может выражаться как в общем снижении биоразнообразия (с сопутствующей деградацией экосистем), так и в передаче наноматериалов по трофическим цепям с

конечным поступлением к человеку как потребителю животной и растительной пищевой продукции.

Ввиду этого, неблагоприятное действие наноматериалов на животных и растения – компоненты экосистем, интенсивно исследуется в последние 20 лет. Однако, большинство исследований, выполненных в этой области, касаются влияния отдельно взятых наноматериалов (таких, например, как углеродные нанотрубки, минеральные наночастицы) на отдельных представителей биоты, например, нематод, ракообразных, рыб, низшие и высшие растения. Вследствие крайнего разнообразия используемых объектов исследования и методических подходов, результаты этих работ трудно сравнивать между собой, в частности, открытым остается вопрос о возможных рисках воздействия промышленно производимых наноматериалов на реально существующие экосистемы.

Таким образом, исследование В.В.Чайки, в котором с использованием единой методической базы изучены воздействия широкого ряда наноматериалов на представителей экосистем всех уровней организации (от микроводорослей до высших животных), представляется высоко актуальным и имеющим большое значение для развития представлений о характере воздействия продукции нанотехнологий на биоценоз, как целостную систему, и о возникающих при этом рисках.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации В.В.Чайки, вытекает, во-первых, из проведенного автором детального анализа представительной выборки литературных источников, отвечающих критериям научной достоверности и полноты, опубликованных в российских и зарубежных рецензируемых научных журналах и изданиях. Во-вторых, научные положения, выводы и рекомендации диссертации обоснованы результатами собственных исследований автора, выполненных на большом объеме экспериментального материала, включая биологические объекты различных уровней организации (микроводоросли, моллюски, ракообразные, насекомые, иглокожие, млекопитающие), с использованием как классических экологических методов, так и современных высокотехнологичных методов, включая конфокальную микроскопию, гистохимические исследования, комбинационное лазерное светорассеяние, иммунохимический анализ цитокинов, поведенческие реакции. Указанные биологические объекты протестированы на воздействие всего 15 видов искусственных наноматериалов, включая 5 видов цеолитов, 2 вида УНТ, 2 вида УНВ, 2 вида «кремниевых» нанотрубок, по одному виду наночастиц золота, диоксида титана, сульфидов цинка и кадмия, что, в основном, отражает спектр наноматериалов, массово производимых промышленностью. Все наноматериалы, использованные в исследовании, охарактеризованы физико-химическими методами, включая электронную микроскопию, выполнен анализ их седиментационной

устойчивости, что важно для оценки персистенции наноматериалов в окружающей среде. Исследования проведены количественными методами на современном, метрологически аттестованном оборудовании и средствах измерений, полученные в достаточном объеме экспериментальные данные статистически обработаны.

Автором сформулирована обладающая внутренним единством, непротиворечивая концепция, излагающая специфику воздействия наночастиц на биологически объекты различного уровня организации, хорошо согласующаяся с существующими научными представлениями в области влияния наночастиц на экосистемы, и являющаяся их дальнейшим логически обоснованным развитием. Таким образом, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации В.В.Чайки, не вызывает сомнений.

### **Научная новизна**

В диссертационной работе В.В.Чайки впервые с использованием единой приборно-аналитической базы, с использованием стандартизованных и унифицированных методов изучены биологические эффекты, возникающие при воздействии 15 видов искусственных наноматериалов на 16 далеких между собой по таксономическому положению видов микроводорослей, беспозвоночных и млекопитающих, что может рассматриваться как адекватная модель загрязнения окружающей среды искусственными наночастицами, производимыми промышленностью. Автором впервые выявлена важная общебиологическая закономерность, состоящая в том, что чем ниже уровень анатомической организации организма, тем сильнее выражен токсический эффект воздействия наночастиц, что объясняется эволюционным развитием действующих компенсаторных и репаративных механизмов. На примере микроводорослей и отдельных групп беспозвоночных впервые показана видоспецифичность ответных реакций организмов на загрязнение наноматериалами. Впервые сопоставлены эффекты, вызываемые в экосистемах наночастицами, с их седиментационной устойчивостью в водной среде, и показано, что в условиях природных сред наночастицы способны в течение длительного времени сохранять свой токсический потенциал. С использованием Рамановской спектроскопии углеродных наноматериалов впервые показано, что в кишечнике насекомых может протекать биотрансформация углеродных структур, таких как УНТ и УНВ. Впервые в практике экотоксикологических исследований наноматериалы ранжированы по уровню их экотоксичности в соответствии с взаимно сопоставимыми экспериментальными данными. В частности, показано, что вне зависимости от уровня организации биологических тест-объектов и строения их клеток, из изученных загрязнителей наиболее токсичными являются частицы на основе металлов CdS, ZnS. Впервые изучено влияние перорально вводимых наноматериалов на поведенческие реакции у крыс (уровень тревожности, поисковой и локомоторной активности, когнитивной функции) и установлено соответствие этих данных с состоянием пищеварительной и вы-

делительной систем, иммунной реакцией. Таким образом, как следует из анализа работы, результаты диссертационного исследования В.В.Чайки обладают существенной научной новизной.

**Теоретическая значимость** результатов работы В.В.Чайки заключается в обосновании единого подхода к оценке действия искусственных наноматериалов на экосистемы с использованием модельных организмов различного уровня организации, что позволяет делать содержательные выводы о последствиях загрязнения окружающей среды наночастицами и наноматериалами для биоразнообразия и совокупного функционирования целостных экосистем. В результате проведенных исследований получены представляющие большое значение для теории нанотоксикологии сведения о системном характере воздействия наноматериалов на представителей экосистем при различных путях поступления. Большой интерес представляют полученные автором данные о зависимости доза-ответ для различных наноматериалов, воздействующих на природные биологические объекты, в том числе о немонотонном характере такой зависимости для углеродных наноматериалов, что является отражением закономерностей их агрегационной устойчивости в природных средах. Результаты работы В.В.Чайки открывают новые перспективы углубленных исследований специальных и отдаленных эффектов, оказываемых искусственными наночастицами на жизнедеятельность таксономически удаленных между собой видов, на организменном, популяционном и экосистемном уровнях.

**Практическая значимость** результатов диссертационного исследования В.В.Чайки состоит в обосновании эффектов токсического действия приоритетных наноматериалов, производимых российской и мировой промышленностью и в массовых количествах поступающих в окружающую среду, на ключевые компоненты экосистем, что позволяет обосновать подходы к гигиеническому нормированию основных видов искусственных наноматериалов. Необходимо отметить, что в настоящее время специфические нормативы безопасного содержания наноматериалов в объектах окружающей среды в России (и в мире) не установлены, и их введение является неотложной задачей, помочь решить которую в значительной мере способны результаты, полученные В.В.Чайкой в своем исследовании. Данные автора о влиянии приоритетных наноматериалов на критически важные компоненты экосистем необходимо учитывать при размещении потенциально опасных нанотехнологических производств, установлении для них адекватных санитарных защитных зон, разработке систем очистки и нейтрализации производственных отходов, содержащих наночастицы и наноматериалы. Полученные в ходе исследования результаты и накопленный автором научно-методический потенциал заслуживают внедрения в образовательные программы по специальностям, связанным с обеспечением безопасности nanoиндустрии и нанотехнологической продукции.

**Достоверность** данных, полученных в работе В.В.Чайки, определяется репрезентативностью проведенного биологического эксперимента (16 видов организмов, компонентов экосистем), высоким методическим уровнем исследований, проведенных с использованием современных специфичных чувствительных высокоинформативных физико-химических, экотоксикологических, морфологических, иммунохимических, физиологических и функциональных методов и тестов, количественным характером полученных данных морфометрических определений и поведенческих тестов, проведенной по всем ключевым показателям эксперимента статистической обработкой с применением адекватных методов математической статистики. Исследования на животных осуществлялись автором в контролируемых условиях вивария, с участием всех надлежащих контролей; дизайн эксперимента получил одобрение Этического комитета. Таким образом, достоверность полученных в работе В.В.Чайки данных не вызывает сомнения.

**Личный вклад соискателя** в выполнение диссертационной работы состоит в определении задач исследований, планировании исследования, выборе методов исследования и подборе адекватных маркеров, проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, теоретическом обобщении результатов исследования, подготовке и сопровождении публикаций. Основная часть исследований, представленных в работе, выполнена диссертантом лично, остальные – при его непосредственном личном участии.

#### **Соответствие работы паспорту специальности**

Тематика исследований, представленных в диссертационной работе В.В.Чайки, соответствует следующим разделам паспорта специальности 1.5.15. – экология:

- исследование влияния абиотических факторов на живые организмы в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости организмов к внешним воздействиям;
- разработка принципов и практических мер, направленных на охрану живой природы как на видовом, так и экосистемном уровне;
- исследование влияния антропогенных факторов на экосистемы различных уровней с целью разработки экологически обоснованных норм воздействия хозяйственной деятельности человека на живую природу.

#### **Публикации по теме работы**

Результаты, представленные в диссертационной работе В.В.Чайки, опубликованы в общей сложности в 41 научной работе, в том числе в 19 статьях в рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации результатов диссертационных работ по специальности 1.5.15. – экология, 20 статьях в профильных зарубежных журналах, индексируемых БД Scopus, 2 главах в монографиях. По материалам диссертации получено 2 патента РФ. Ре-

зультаты проведенных исследований представлены автором (самостоятельно и в соавторстве) на 13 Международных и Всероссийских научных съездах и конференциях. Тематика всех публикаций автора, представленных в автореферате, соответствует специальности 1.5.15. – экология и содержанию проделанных исследований, все результаты, полученные автором в работе, получили отражение в научных публикациях.

#### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация В.В.Чайки по своей структуре, объёму, содержанию соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям. Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 289 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», 4 глав результатов собственных исследований, одной главы, в которой проводится обсуждение полученных результатов, восьми выводов и списка цитируемой литературы, включающего 584 источника, из которых 100 на русском и 484 на иностранных языках). Автором сформулированы четыре положения работы, выносимые на защиту. Диссертация иллюстрирована 46 таблицами и 109 рисунками.

Во «Введении» сформулирована проблема исследования и обоснована её актуальность, поставлены цель и задачи, отражены новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Обзор литературы состоит из двух разделов. В первом из них дается общая характеристика современного состояния наноиндустрии, антропогенной нагрузки искусственными наноматериалами на окружающую среду, излагаются основные принципы и методы нанотоксикологических исследований. Во втором разделе проведен детализованный анализ данных научной литературы о воздействии различных видов наноматериалов на компоненты экосистем. Содержание обзора литературы свидетельствует о хорошем уровне знакомства автора с современным состоянием исследований в области нанотоксикологии (включая экотоксичность наноматериалов), позволяет обосновать основные направления проводимого исследования, его цели и задачи.

В разделе «Материалы и методы» приведены сведения об объеме исследования (использованном биологическом материале), дизайне экспериментов на микроводорослях, беспозвоночных - компонентах природных экосистем (моллюски, ракообразные, насекомые, иглокожие) и млекопитающих (лабораторных мышах и крысах), дана физико-химическая характеристика использованных в работе наноматериалов, включая глинистые природные наноматериалы – цеолиты, УНТ, УНВ, наночастицы диоксида титана, золота, сульфидов цинка и кадмия, минеральные (кремний-оксидные) нанотрубки, изложены в логической последовательности методы исследования, включая экотоксикологические (изучение развития и репродуктивной функции водных организмов), морфологические (гистохимические, конфокально-микроскопические), физико-химические (комбина-

ционное лазерное светорассеяние), иммунохимические, физиологические (оценка поведенческих реакций).

В главе 3 собственных исследований представлены результаты изучения физико-химических свойств металлических, углеродных и минеральных наночастиц, включая их седиментационную устойчивость, структуру нанообъектов, способность к агрегации. Следует отметить тщательность проведенных физико-химических исследований, а также то обстоятельство, что использованные препараты УНТ и УНВ были освобождены автором от примесей металлических катализаторов, которые могли бы в ином случае затруднить интерпретацию результатов исследования.

В Главе 4 в логической последовательности описаны результаты экспериментов по влиянию углеродных наноматериалов (УНТ и УНВ) на биологические объекты различного уровня организации. Представлены данные об ответных реакциях микроорганизмов (микроводорослей), иглокожих (морские ежи *Scaphechinus mirabilis* на эмбриональной и личиночной стадии развития), раков-бокоплавов (*Gammarus sp.*), двустворчатых моллюсков (*Modiolus modiolus*, *Crenomytilus grayanus*, *Arca boucardi*); насекомых (*Diamesa sp.*, *Drunella cryptomeria*, *Alloperla deminuta*), млекопитающих (крыс и мышей) на несколько видов хорошо охарактеризованных углеродных наноматериалов. Подробно приведены данные о влиянии перорально вводимых углеродных наноматериалов на поведенческие реакции (уровень тревожности и локомоторной/поисковой активности, когнитивная функция) у крыс.

В Главе 5 представлены результаты собственных исследований по ответным реакциям видов различного таксономического положения и уровня анатомической организации на воздействие наночастиц на основе металлов, включая наночастицы диоксида титана, металлического золота, сульфидов цинка и кадмия. Объекты исследования включали микроводоросли, эмбрионы и личинки морских ежей, гемолимфу моллюсков, организмы и отдельные ткани насекомых. Проведены исследования воспаления и системной транслокации неорганических наноматериалов после их введения в организм мышей.

В Главе 6 описаны ответные реакции микроорганизмов, беспозвоночных и млекопитающих на введение искусственных минеральных (силикатных) наночастиц, таких как кремний оксидные нанотрубки и наноглинистые материалы (цеолиты), произведенные из пяти природных минеральных источников. При этом использованы эмбриологические, морфологические (гистохимические) и морфометрические методы оценки состояния тестируемых биологических объектов.

В главе 7, представляющей собой обсуждение полученных экспериментальных результатов, сформулированы общие закономерности воздействия наночастиц на организмы с разным уровнем организации, и представлены рекомендации к изменению существующей

щих норм и методов контроля наноматериалов, воздействующих на объекты окружающей среды.

Выводы к диссертационной работе В.В.Чайки сформулированы в 8 пунктах. Выводы информативны, конкретны, соответствуют поставленным задачам исследования и отражают все основные полученные результаты.

В автореферате диссертации В.В.Чайки излагаются основные идеи и выводы диссертации, показывается вклад автора в проведенное исследование, степень новизны и практическая значимость полученных результатов, содержатся сведения об организации, в которой выполнялась диссертация, об оппонентах и ведущей организации, о научном консультанте соискателя, приводится список публикаций автора, в которых отражены научные результаты диссертации. Автореферат содержит все необходимые разделы и полностью соответствует диссертации по своему содержанию.

### **Замечания по диссертационной работе**

1. В заглавии диссертационной работы неудачно сформулировано «*Влияние разных типов наночастиц на <...> с целью <...>*». «Влияние» наночастиц на показатели жизнедеятельности биологических объектов само по себе не может иметь никакой «цели», это естественный токсиколого-биологический процесс. «Цель» ставит перед собой исследователь, проводящий изучение данных процессов.

2. В разделе «Содержание» в заголовке главы 7 перед словом «среды» не хватает слова «окружающей».

3. В разделе «Введение» автор ничего не говорит о системе оценки безопасности наноматериалов, существующей в настоящее время в России и базирующейся на основе ряда утвержденных нормативно-методических документов. Краткое упоминание о входящей в эту систему «Концепции токсикологических исследований...» имеется на стр. 15, но этого недостаточно. С мнением автора о том, что в России нанотехнологические исследования проводились «с отставанием» от США, нельзя в полной мере согласиться.

4. Неудачный заголовок раздела «*Литературный обзор*». Данный раздел является по содержанию «Обзором литературы», а вопрос, насколько он по своему изложению является «литературным» — это оценочное суждение.

5. В разделе 1.1. Обзора не упоминаются в качестве наноматериалов фуллерены и фуллереноподобные структуры (наноионы и т.п.), хотя далее в тексте работы о них говорится.

6. Заголовок раздела 1.1. сформулирован как «Наноиндустрия: направления и экологические последствия», однако собственно о наноиндустрии и её влиянии на экологию в данном разделе почти ничего не сказано. Раздел представляет собой исторический экскурс в нанотоксикологию и нормативное регулирование наноматериалов в отдельных странах, причем всё обсуждение базируется только на работах 2000-2010 гг., с минимальным чис-

лом отсылок к более поздним публикациям (до 2015) и с полным отсутствием анализа современных работ в этой области, за 2015-2021 гг. На основании представленных в разделе данных может создаться впечатление, что развитие нанотоксикологии остановилось где-то около 2010 года, но это далеко не так: число публикаций по токсическим свойствам наночастиц и наноматериалов в последние 2-3 года продолжает быстро расти.

7. В разделе обзора 1.2 «Влияние наночастиц на живые организмы», в отличие от предыдущего, представлена сводка большого числа интересных данных литературы по экотоксикологическим характеристикам различных наноматериалов, в том числе на основе современных публикаций. Видно, что автором проделан большой объём работы по сбору и анализу этой информации. Однако, материал в данном разделе обзора недостаточно структурирован, что затрудняет его восприятие. С точки зрения иерархии природных экосистем было бы целесообразно изложить материал по токсичности для организмов в порядке усложнения их биологической организации (что обратно коррелирует, как правило, с их биомассой и трофической ролью в природных экосистемах). То есть, корректная последовательность изложения была бы такой: бактерии (включая микробные сообщества и природные биоплёнки) – микроводоросли – растения (высшие) – беспозвоночные (в порядке усложнения их анатомической организации: нематоды – моллюски – ракообразные – насекомые – иглокожие) – млекопитающие. К сожалению, данная последовательность изложения автором не вполне соблюдена. Так, раздел по влиянию на бактерии дан последним, а его следовало бы дать в начале, поскольку именно влияние наночастиц на микроорганизмы объясняет многие эффекты, наблюдаемые как на уровне многоклеточных хозяев микробиома, так и цельных экосистем. В разделе обзора, посвященном млекопитающим, следовало бы сосредоточиться на исследованиях, описывающих эффекты наночастиц при их естественном поступлении в организм: ингаляционном и пероральном, тогда как эксперименты с парентеральным введением наноматериалов (внутрибрюшинно, подкожно, внутривенно) имеют только отдаленное отношение к их экотоксикологическим свойствам, а исследования на клеточных культурах должны рассматриваться как скрининговые и в привязке к конкретным типам клеток, характерных для тех или иных органов и систем (например, клеток альвеолярного эпителия, эритроцитов, гепатоцитов, макрофагов, почечных клеток и т.д.). В разделе «млекопитающие» ошибочно приведены данные исследований на дафниях. Обсуждение проблем медицинского применения наночастиц встречается неоднократно на протяжении всего обзора литературы, но эти вопросы имеют к экотоксичности самое отдаленное отношение, и их можно было бы убрать из работы без ущерба для её содержания. С другой стороны, автором, к сожалению, не рассмотрены данные интересных современных работ на *in vivo* моделях у млекопитающих, в которых применяется подход в виде т.н. «средовой экспозиции» (*environmental exposition*),

то есть комплексное экспонирование животного через субстрат (подстилку) сразу по нескольким входным путям (ингаляционно, перорально, через кожу и слизистые оболочки).

8. В главе 1 отсутствует какое-либо заключение по всей проанализированной литературе. Непонятно, какова позиция автора по вопросам о степени изученности экотоксикологических свойств различных наноматериалов, какие пробелы в знаниях существуют в данной области, и в какой степени проводимая автором экспериментальная работа призвана их заполнить? Из обзора литературы не выводится обоснование целей и задач, методической части исследования, выбора природных тест-объектов и т.д. В итоге обзор литературы производит впечатление слабо связанного со всем массивом представленных далее экспериментальных данных.

9. Замечания к главе 3 «Физико-химические свойства наночастиц, вовлеченных в исследование» имеют чисто технический и терминологический характер. Так, непонятно, почему данный раздел опять начинается с обзора литературы, хотя в целом в нем идёт речь о собственных исследованиях? Обозначения по осям на рис. 1А не читаются. Не приведена характеристика минеральных частиц (цеолитов) после дробления. Непонятно, насколько при этом изменяется размер частиц? Неудачный термин «кремниевые нанотрубки». Можно подумать, что они состоят из элементарного кремния (Si) по аналогии, например, с «кремниевыми микросхемами», хотя ясно, что в данном случае речь всё же идёт об оксиде (SiO<sub>2</sub>).

10. Замечания по разделам собственных исследований. На рис. 27, 31, 49, 94 и ряде аналогичных неизвестно число повторов проведенных тестов, и не показана достоверность различия представленных экспериментальных величин. На части рисунков сохранились английские обозначения по осям и подписи. По-видимому, эти рисунки скопированы из публикаций автора в зарубежных журналах. Но для диссертации, представляемой на русском языке, эти рисунки следовало бы переделать. В подписях к рисункам есть неудачные формулировки, например «почечные органы» (рис.67), «оральные нанотрубки» (рис. 163).

11. В разделе, посвященном поведенческим реакциям, автором используется очень запутанная и неоднозначная терминология. Например, в ряде мест работы упомянуты «возвышенный крестообразный лабиринт», «приподнятый крестообразный лабиринт», просто «приподнятый лабиринт», «приподнятый плюсовой лабиринт» и т.д. в разных сочетаниях. Читатель, не являющийся узким специалистом в поведенческих тестах, может предположить, что речь идет о разных методах испытаний, хотя на самом деле это всё одно и то же.

12. В таблице 28 непонятно, что за показатель «Количество воспитания». В тексте работы это никак не поясняется. Может быть, речь идет о числе стоек животного? По-видимому, это термин – неудачная калька с английского языка.

13. В таблице 30 (цитокины) слишком много цифр после запятой, причем разное в основном значении и в погрешности. Число значащих цифр в количественных данных должно соответствовать точности (погрешности) определения.

**Приведенные замечания относятся к виду представления полученных экспериментальных данных и оформлению диссертационной работы, и не сказываются на содержательной стороне полученных автором результатов исследования и их достоверности.**

#### **Вопросы к автору диссертации**

Представленные в работе В.В.Чайки результаты представляют большой научно-теоретический и практический интерес. Поэтому не удивительно, что к автору работы имеется целый ряд вопросов.

1. Какую форму и распределение по размерам имели наночастицы золота, использованные в работе? К сожалению, данные по их электронно-микроскопической характеристике в работе отсутствуют.

2. Чем именно автор объясняет резкие различия в седиментограммах НЧ, приведенные в разделе 3? Например, НЧ золота совершенно не седиментировали, скорость седиментации НЧ ZnS и CdS была очень высокой, а УНТ, УНВ и TiO<sub>2</sub> – умеренной. Что играет в этом решающую роль - форма, размер, дзета-потенциал частиц, состав дисперсионной среды или что-то иное?

3. В таблице 7 и ряде последующих аналогичных данные о воздействии наноматериалов на микроводоросли и ряд других биологических систем представлены как величины EC<sub>50</sub> и их 95%-ные доверительные интервалы изменения, что принято в экотоксикологических исследованиях. Однако, хотелось бы узнать, каково было число повторности каждого токсикологического теста, и во всех ли случаях эффекты, декларируемые автором, как выявленные, были статистически достоверны?

4. В каких дозах и с какой кратностью применяли УНТ и УНВ в экспериментах на мышах и крысах? Если УНТ вводили в составе корма, то какое было в нем их удельное содержание, и как рассчитывали дозу (в частности, как учитывали поедаемость корма)?

5. Почему автор обозначает УНВ как «синтетические наночастицы» (с.170 рукописи)? Не значит же это, что остальные изученные наноматериалы (кроме цеолитов) были в каком-то смысле «природными», то есть несинтетическими?

6. Насколько можно понять из текста на с.199 рукописи, автор считает, что НЧ золота могут трансформироваться в макрофагах ферментативным путем. Было бы интересно узнать, что же это за ферменты, способные действовать на нульвалентное золото при физиологических условиях?

7. Как следует из представленных автором данных, цеолит вводили перорально мышам в дозе «3-5% от массы тела». Получается, что это очень высокая доза, порядка 30-

50 г/кг массы тела. Желательно было бы узнать, каким образом вещество в такой дозе вводили мышам, и как они реагировали на такое введение? Было ли это введение острым (однократным) или повторным?

8. Каким по мнению автора может быть механизм влияния УНТ (и, в меньшей степени УНВ) на поведенческие реакции, если, как утверждается в работе, УНТ не проходят через гематоэнцефалический барьер? Какие системные изменения в организме животного, вызываемые УНТ, отражаются на функции головного мозга и/или на развитии в нем воспаления? Действительно ли ведущая роль в этом может принадлежать системной продукции цитокинов?

9. При парентеральном (то есть при подкожном или внутримышечном) введении наноматериалов (в особенности имеющих природное происхождение, таких, как цеолиты) очень важным представляется вопрос о возможной их контаминации бактериальным эндотоксином, который является вездесущим компонентом различных природных объектов и способен сам по себе оказывать сильнейшее воспалительное действие на организм, безотносительно к эффектам собственно наноматериала, являющегося объектом исследования. Что может сказать автор по вопросу о возможном присутствии эндотоксина в изученных наноматериалах и связанных с этим эффектах?

10. В разделе 7.3. автор представляет «Рекомендации к изменению норм и методов контроля, состояния среды и ее охране от новой экологической угрозы». Было бы интересно узнать мнение автора по вопросу о том, какие же изменения в действующие гигиенические нормативы следовало бы внести и в отношении каких именно наноматериалов, чтобы предотвратить их наиболее вероятное на данный момент вредное воздействие на экосистемы?

### **Заключение**

#### **Соответствие диссертации и автореферата требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней»**

Исходя из вышесказанного, можно заключить, что диссертация Чайки В.В. «Влияние разных типов наночастиц на устойчивость организмов с разным уровнем организации с целью определения их ответных реакций и порога устойчивости» является обладающей внутренним единством научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области изучения влияния приоритетных видов промышленно производимых наноматериалов на состояние экосистем, представленных видами различного уровня организации. Результаты диссертационного исследования имеют большое теоретическое и научно-практическое значение для экологии, нанотоксикологии, охраны окружающей среды, гигиенического нормирования и контроля наноматериалов и продукции наноиндустрии.

