

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, Манухова Ильи Владимировича на диссертацию Бобровой Марии Михайловны «Разработка и исследование скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени для биоинженерных конструкций», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 - трансплантология и искусственные органы.

Актуальность темы диссертации

Создание биоинженерных конструкций, способных воссоздать нативную архитектуру, микро- и наноструктурные особенности органов и тканей, а также их функциональную активность, является одной из главных проблем регенеративной медицины. Синтетические материалы широко используются при получении конструкций, которые имеют некоторые преимущества, в том числе и улучшенные механические свойства, но не способные воссоздать нативные свойства ткани и микроокружение для клеток.

Перспективной технологией создания трансплантатов для регенеративной медицины и тканевой инженерии является децеллюляризация органов, то есть процесс удаление клеток из ткани. При использовании данного метода межклеточного матрикса ткани сохраняет структуру, состав, сосудистое русло и биологическую активность. При этом компоненты межклеточного матрикса в составе изделий способны воссоздать естественное микроокружение для клеток.

Для наномасштабного анализа и контроля трехмерной морфологии и структуры разрабатываемых изделий для эффективного восстановления тканей и органов используется метод сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ), который позволяет исследовать нативную

трехмерную микро- и наноструктуру биоматериалов, в том числе и децеллюляризованной ткани, с разрешением в десятки нанометров.

Тема диссертационного исследования Бобровой М.М. представляет научный интерес и является актуальной в области регенеративной медицины и тканевой инженерии.

Новизна исследования и полученных результатов

В рамках диссертации произведена разработка и исследование структуры и биологических свойств высокоэффективных биodeградируемых скаффолдов для регенеративной медицины. Автором представлены оригинальные методики создания скаффолдов для биоинженерных конструкций на основе децеллюляризованной ткани печени в виде макрочастиц, фрагментов межклеточного матрикса и 2D композитных скаффолдов в виде пленок из фиброина шелка. Впервые методом СЗНТ проанализированы микро- и наноструктурные особенности полученных скаффолдов, которые обуславливают высокий уровень биологических свойств разработанных конструкций. Полученные данные в рамках диссертации доказывают высокий регенеративный потенциал биodeградируемых скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Диссертационная работа имеет важную научную и практическую ценность. Разработан оригинальный метод создания композитных биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка путем включения в состав макрочастиц децеллюляризованной ткани печени крысы, позволяющий получить конструкцию с наноструктурированной поверхностью и улучшенными биологическими свойствами. Автором работы показана связь особенностей структуры поверхности разработанных

скаффолдов с высоким уровнем регенеративного потенциала Разработанные Бобровой М.М. в рамках диссертации биodeградируемые скаффолды следует рекомендовать для проведения дальнейших доклинических исследований, поскольку описанные в работе методы позволят создать высокоэффективные персонализированные изделия для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации

Основные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе хорошо обоснованы. Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечена достаточным объемом рядом исследований с применением современных лабораторных и инструментальных методов анализа. Экспериментальные исследования в диссертации включают в себя использование для экспериментов по анализу биологических свойств двух линий клеток и 20 самцов крыс породы Wistar для экспериментов по анализу регенеративного потенциала *in vivo*. В работе применены современные методы статистической обработки данных. Обоснованность и достоверность выводов диссертационной работы и положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений.

Оценка содержания и завершенности диссертации, достоверности результатов и выводов

Диссертация Бобровой М.М. оформлена в классическом стиле, изложена на 146 страницах машинописного текста, состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Работа

иллюстрирована 34 рисунками и 7 таблицами. Список литературы включает в себя 180 источников, в том числе 16 отечественных и 164 зарубежных.

Введение полностью отражает актуальность исследования, отражены цели и задачи работы. Сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость диссертации.

В главе «обзор литературы» анализируется современное состояние проблемы разработки тканеинженерных конструкций и применения технологии децеллюляризации. На основании анализа большого количества отечественных и зарубежных источников литературы автором предоставляется современный взгляд на технологию децеллюляризации органов, исследованию структуры и состава получаемого межклеточного матрикса, охватываются вопросы строения и функции межклеточного матрикса печени. В заключении рассматриваются сферы использования децеллюляризованной ткани различных органов, а также указываются неизученные аспекты параметров децеллюляризованной ткани и обосновывается создание новых форм конструкций на основе межклеточного матрикса.

В главе «материалы и методы» описаны методы исследования, описаны схемы проведения анализа биологических свойств изделий, изучения регенеративного потенциала скаффолдов в экспериментальной модели заживления кожной раны крысы. Описанные методы исследования и статистического анализа полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

В третьей главе приведены результаты диссертационного исследования: получение децеллюляризованной ткани печени породы Wistar и подбор параметров протокола децеллюляризации, анализ сохранности сосудистого русла, гистологическое исследование, анализ содержания количества остаточной ДНК и биохимического состава децеллюляризованной ткани. Автором описана разработка и получение

изделий на основе децеллюляризованной ткани печени в виде макрочастиц, лиофилизированных фрагментов и скаффолдов в виде пленок на основе фиброина шелка, с включенными в состав микрочастицами межклеточного матрикса печени. Изучены микро- и наноструктурные особенности всех изделий методом сканирующей зондовой нанотомографии, проведены анализы на цитотоксичность, адгезию и пролиферацию клеток на скаффолдах. Регенеративный потенциал разработанных скаффолдов был изучен в экспериментальной модели заживления полнослойной раны кожи у крысы. Биodeградируемые скаффолды на основе децеллюляризованной ткани печени ускоряют заживление раны в среднем в два раза, что подтверждает высокий уровень регенеративного потенциала скаффолдов, полученных по разработанным оригинальным методикам. Результаты диссертационного исследования полно проиллюстрированы рисунками и таблицами.

Глава «обсуждение» содержит анализ полученных результатов и их сопоставление с литературными данными. Глава хорошо написана и завершается обобщающим заключением.

Выводы соответствуют соответствующим сформулированной цели и поставленным задачам, корректны и обоснованы.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению к рассматриваемой диссертационной работе нет. Следует отметить, что в работе следовало обозначать на рисунках фрагменты, на которые обращается внимание в тексте диссертации (например, на картинках, демонстрирующих результат гистологического исследования указать на волосяной фолликул).

Подтверждение опубликований основных результатов диссертации в научной печати

По материалам исследования опубликовано 13 статей, из них 10 в российских журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, а также в одну из международных баз Web of Science или Scopus, и 3 статьи в зарубежных журналах. Также по результатам диссертационной работы получено пять российских патентов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат в полном объеме отражает содержание диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Бобровой М.М. «Разработка и исследование скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени для биоинженерных конструкций», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 - трансплантология и искусственные органы, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научно-практическая задача-доказано наличие высокого регенеративного потенциала биodeградируемых скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени, в том числе композитных скаффолдов на основе фиброина шелка, с включенными в состав микрочастицами межклеточного матрикса.

По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Бобровой М.М. «Разработка и исследование скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени для биоинженерных конструкций»

соответствует требованиям п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842 (в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016г. №335), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

Доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной генетики
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»

Манухов И.В.

«23» сентября 2019 г.

Подпись д.б.н. Манухова Ильи Владимировича заверяю

Ученый секретарь МФТИ



Скалько Ю. И.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».

Почтовый адрес: 141701, Российская Федерация, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., дом 9

Телефон: +7 (495) 408-45-54

Электронная почта: info@mipt.ru

Адрес в сети интернет: www.mipt.ru