

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Манухова Ильи Владимировича на диссертацию Сафоновой Любови Александровны «Разработка и исследование 2D и 3D биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка для регенеративной медицины», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

### Актуальность темы диссертации

Разработка и исследование материалов для создания искусственных органов являются важными и актуальными задачами тканевой инженерии и регенеративной медицины. В данный момент исследования в этой области связаны с природными материалами. Именно эти материалы в большей степени соответствуют требованиям, предъявляемым к материалам для тканевой инженерии и регенеративной медицины, а именно биосовместимости, биodeградируемости и отсутствия токсичных для клеток продуктов биodeградации.

Одной из важных задач является создание конструкций, способных воспроизводить свойства нативного межклеточного матрикса и выполнять его функции, то есть эффективно обеспечивать адгезию, пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток.

Диссертационная работа Сафоновой Л.А. посвящена изучению структуры и биологических свойств конструкций на основе фиброина шелка из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori*, а также показан высокий регенеративный потенциал в модели заживления полнослойной раны кожи крыс.

Таким образом, актуальность данного исследования не вызывает сомнений, а тема диссертационного исследования является важной для развития тканевой инженерии и регенеративной медицины.

### **Новизна исследования и полученных результатов**

Автором впервые получены микроволокнистые скаффолды на основе фиброина шелка и рекомбинантных спидроинов 2E12 и 2E12-RGD методом электроспиннинга, а также изучены их биологические свойства и доказан высокий регенеративный потенциал данных конструкций в модели заживления полнослойной раны кожи крыс.

Методом сканирующей зондовой нанотомографии впервые проведено исследование микро- и наноструктуры полученных 2D и 3D конструкций и выявлены особенности структуры различных групп образцов. Полученные 2D скаффолды в виде пленок на основе фиброина шелка характеризуются не имеют микро- и нанопор во внутренней структуре, которая характеризуется наличием глобул. В ходе исследования микро- и наноструктуры полученных микроволокнистых 3D скаффолдов на основе фиброина шелка вычислены объемная пористость и отношение поверхности к объему скаффолдов, которые являются важными характеристиками, определяющими биологические свойства скаффолдов, а также показана внутренняя структура отдельных волокон в составе 3D скаффолдов, представленная глобулами.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

В рамках диссертационной работы разработаны методики, позволяющие получить 2D скаффолды в виде пленок на основе фиброина шелка методом полива и микроволокнистые 3D скаффолды на основе фиброина шелка методом электроспиннинга.

Получены данные о микро- и наноструктуре и изучены биологические свойства разработанных конструкций, которые характеризуют все полученные скаффолды как не токсичные, поддерживающие адгезию и пролиферацию клеток. Показан высокий регенеративный потенциал полученных конструкций в системе *in vivo*. Полученные результаты предварительных исследований структуры и биологических свойств пленок и микроволокнистых скаффолдов на основе фиброина шелка позволяют рекомендовать данные конструкции для проведения доклинических исследований с целью их использования в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

### **Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации**

Достоверность результатов, представленных в диссертационной работе, определяется репрезентативным объемом проведенных экспериментальных исследований, адекватной статистической обработкой полученных данных. Исследования биосовместимости *in vitro* проведены на 2 линии клеток – Нер-G<sub>2</sub> и 3Т3, в экспериментах по исследованию биосовместимости *in vivo* и оценке регенеративного потенциала использовано 45 самцов крыс породы Wistar.

Основные положения и выводы, сформулированные в диссертации, закономерно следуют из полученных результатов и являются научно обоснованными. Для достижения цели исследования и решения поставленных задач автором использованы современные методы исследования, выбор которые является адекватным по отношению к поставленным задачам исследования.

## **Оценка содержания и завершенности диссертации, достоверности результатов и выводов**

Диссертационная работа оформлена традиционно, изложена на 125 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, главу, посвященную материалам и методам исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы и список литературы, включающий 113 источников, в том числе 13 отечественных и 100 зарубежных. Работа иллюстрирована 27 рисунками, содержит 9 таблиц.

Введение содержит обоснование актуальности работы, цели и задачи исследования, её новизну и практическую значимость. Задачи соответствуют поставленной цели, положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, в котором анализируются перспективы фиброина шелка, как материала для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Автором рассмотрены важнейшие свойства материалов, применяемых в тканевой инженерии и регенеративной медицине, и приведены актуальные данные о структуре и свойствах фиброина шелка. Проанализированы данные о современном состоянии исследований по применению фиброина шелка в различных областях регенеративной медицины. Также автором рассмотрены основные свойства и исследования коллагена и рекомбинантных спидроинов, которые автор в ходе использует как композитные добавки в составе скаффолдов. Обзор литературы основан на современных исследованиях различных групп авторов. Проведенный анализ литературы позволяет обосновать целесообразность данного исследования и сформулировать его основные задачи.

Глава 2 посвящена материалам и методам, которые автор использует в работе. Автором изложены материалы, применяемые для каждого этапа исследований, а также описаны клеточные линии и лабораторные животные, которые использованы в работе. Методы исследования изложены логически и последовательно, начиная с получения материалов для изготовления скаффолдов, получения скаффолдов различного состава, а затем изучения их структуры и биологических свойств. Методы описаны грамотно и подробно, что позволяет судить об уверенном владении приводимыми методиками.

В главе 3 автор излагает результаты исследований. Данная глава хорошо структурирована и включает 6 разделов, в которых автор рассматривает получение конструкций для исследований, анализ их структуры, исследование деградации и механических свойств скаффолдов в виде пленок и исследование биологических свойств полученных конструкций *in vitro* и *in vivo*. Результаты изложены последовательно, хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками.

Обсуждение полученных результатов представлено в главе 4. Автор обобщает полученные данные, анализирует их с опорой на сведения из литературы. Рассуждения автора убеждают в возможном перспективном применении полученных конструкций в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

Заключают работу 7 выводов, которые соответствуют поставленным задачам, корректны и логически следуют из полученных результатов.

Принципиальных замечаний по оформлению диссертации нет, однако, при ее прочтении возникает следующее замечание. В работе большое внимание уделено обоснованию важности исследования механических свойств полученных конструкций и их скорости деградации, однако, не приведены исследования этих свойств для микроволокнистых скаффолдов. Отмеченный недочет является рекомендацией к продолжению исследований и не снижает высокой оценки данной диссертации. Работа написана хорошим языком и отличается логическим построением.

## **Подтверждение опубликований основных результатов диссертации в научной печати**

По материалам исследования были опубликованы 12 статей в российских и зарубежных журналах, входящих в одну из международных баз Web of Science или Scopus. Из них 9 статей в российских журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ и 3 статьи в зарубежных журналах. По теме диссертационной работы получено 5 патентов.

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат в полном объеме отражает содержание диссертационной работы.

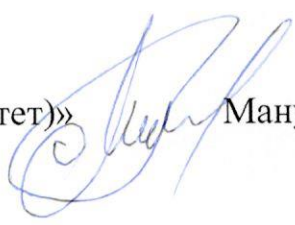
## **Заключение**

Диссертационная работа Сафоновой Л.А. на тему: «Разработка и исследование 2D и 3D биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка для регенеративной медицины», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена важная научно-практическая задача – разработаны методики получения конструкций на основе фиброина шелка и доказан их высокий регенеративный потенциал.

По своей актуальности, научной новизне, объему проведенного исследования, практической значимости и методическому уровню

диссертационная работа полностью 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.

«13» 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](mailto:info@mipt.ru)

Адрес в сети интернет: [www.mipt.ru](http://www.mipt.ru)