

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА,
заведующего лабораторией бионанотехнологий ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени
академика В.И. Шумакова» Минздрава России
доктора биологических наук, профессора
Агапова Игоря Ивановича
на диссертацию Клабукова Ильи Дмитриевича «Многослойная тканеинженерная
конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для
восстановления поврежденных желчных путей», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 - Патологическая
физиология (биологические науки)

Актуальность темы выполненной работы

Проблема создания новых материалов для разработки имплантируемых тканеинженерных конструкций с улучшенными свойствами представляет собой актуальную проблему современной трансплантологии и биоинженерии. Одно из перспективных направлений при решении данной проблемы связано с новыми методами модификации существующих материалов для достижения эффектов функционализации трансплантата в организме реципиента. Использование модифицированных материалов позволяет снизить риски развития послеоперационных осложнений при применении биоинженерных тканей, созданных с использованием клеток и искусственного каркаса, которые проявляются в виде ишемических повреждений, очаговых и системных инфекций, разрастания соединительной ткани, а также развитию иных тканеспецифичных осложнений.

Диссертационная работа Клабукова Ильи Дмитриевича направлена на создание и оценку свойств компонентов биологически и физиологически совместимой тканеинженерной конструкции желчного протока для использования в целях неосложненного восстановления поврежденных желчных путей. Проведенные автором экспериментальные исследования по изучению свойств биосовместимых и биodeградируемых материалов, модифицированных биологически активными соединениями и витализированных клеточными культурами, являются актуальными и востребованными в современной фундаментальной и прикладной биомедицинской науке.

Научная новизна полученных результатов

Автором впервые проведено эмульсионное инкорпорирование молекул нуклеиновых кислот в объем волокнистых материалов, которое позволило создать каркасы из синтетических материалов с пролонгированным высвобождением биологически активных соединений.

Предложена модель регулируемого высвобождения биологически активных соединений из объема материала для обеспечения физиологической совместимости трансплантатов.

Для длительного обеспечения дренажной функции желчного протока впервые использован способ витализации каркаса тканеинженерной конструкции модификацией биосовместимого и биodeградируемого волокнистого поликапролактона с включением в структуру волокон эмульсии с плазмидой, содержащей ген фактора роста эндотелия сосудов (генотерапевтический препарат «Неоваскулген»), и эмульсии с эпидермальным фактором роста (EGF).

Методом биосенсорного анализа в режиме реального времени доказана эффективность модификации волокнистого поликапролактона с использованием эпидермального фактора роста (EGF) с целью стимулирования пролиферации клеток.

При имплантации изделия, представляющего из себя волокнистый поликапролактон, модифицированный препаратом «Неоваскулген», отмечена стимуляция васкулогенеза по мере биорезорбции материала. Применение трубчатого каркаса из поликапролактона при моделировании интраоперационной травмы желчного протока свиньи не показало обтурации просвета солями желчных кислот и выраженного воспаления тканей.

Степень достоверности результатов и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Полученные автором основные научные результаты представительны и достоверны. Использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны. Выводы диссертационной работы полностью обоснованы и соответствуют полученным результатам. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием в работе комплекса методических подходов: флуоресцентной и электронной микроскопии, иммуноферментного анализа, оценки жизнеспособности клеточных культур методами МТТ-теста и биосенсорного анализа в реальном времени, постановки и проведения хирургического эксперимента, с использованием современных методов оценки результатов.

Общая структура и содержание диссертационной работы

Диссертация Клабукова И.Д. написана по традиционному плану, материал изложен на 205-ти страницах и структурирован по требованиям ВАК. Материалы диссертации содержат 67 рисунков и 11 таблиц, которые помогают читателю в лучшем восприятии содержания работы. Диссертация состоит из разделов «Введение», четырех глав с результатами, «Заключение» и «Выводы». В главе «Обзор литературы» дана общая характеристика

рассматриваемой в работе проблемы и приводится детальное описание патофизиологических аспектов восстановления поврежденных желчных путей при использовании нативных и искусственных материалов. В главе «Материалы и методы» подробно излагаются особенности использованного в работе инструментария. Глава «Результаты» посвящена подробному изложению полученных в работе научных результатов, материал логически структурирован для лучшего восприятия читателем. В главе «Обсуждение» подробно рассматриваются полученные в работе результаты, в том числе проводится критическое сравнение с современными мировыми достижениями в данной научной области.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы

Теоретическая и научно-практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что впервые разработан и обоснован дизайн тканеинженерной конструкции желчного протока, который направлен на исключение не только ранних, но и поздних послеоперационных осложнений при восстановительных операциях на желчных путях. Методом эмульсионного электроформования создан многослойный каркас с механическими свойствами, соответствующими свойствам нативного желчного протока. Разработанная методика витализации каркаса тканеинженерной конструкции плазмидой и эпидермальным фактором роста обеспечивает пролонгированный и контролируемый выход биологически активных соединений по мере деградации материала для поддержания жизнедеятельности адгезированных клеток, стимулирования пролиферации эпителиальных клеток и индуцирования процессов неоваскуляризации в зоне имплантации тканеинженерной конструкции.

Значимость результатов диссертационного исследования подтверждена полученными патентами на изобретения «Способ изготовления трехслойного каркаса для протезирования желчного протока» (RU 2630061) и «Способ получения тканеинженерной конструкции» (RU 2661738), а также полезную модель «Каркас для протезирования желчного протока» (RU 163630).

Разработанный в работе комплекс методов может быть использован для создания биологически и физиологически совместимых тканеинженерных конструкций различных полых эпителиальных органов на основе биodeградируемых и витализированных волокнистых каркасов.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов

Полученные автором результаты опубликованы в 17-ти печатных работах, в том числе 6 работ в изданиях рекомендованных ВАК и индексируемых в Scopus, 3-х патентах на изобретения и полезную модель, а также в 8-ми сборниках тезисов российских и

международных конференций. Основные положения проведенного исследования имеют высокую научно-практическую значимость и могут быть использованы при проведении экспериментальных исследований регенерации желчных путей с помощью модифицированных искусственных материалов.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации полностью отражает разделы и положения диссертации, резюмирует полученные в работе результаты.

Замечания и вопросы

При прочтении диссертационного исследования остается неразрешенным вопрос, почему при имплантации модифицированного «Неоваскулгеном» материала крысам наблюдались именно автокаталитические эффекты при резорбции и деградации волокнистого поликапролактона? Хотя данные результаты не выносятся в выносимые на защиту положения, феномен автокаталитической деградации полимеров *in vivo* представляет собой сложную для изучения область. Выявленные автором эффекты могут объясняться совершенно иными процессами, например созреванием соединительной ткани вокруг полимерных волокон, а также избирательным воздействием используемых при пробоподготовке образцов смеси этанол-ксилол.

Заключение

Диссертационная работа Клабукова Ильи Дмитриевича «Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей» посвящена актуальной и важной научной проблеме, проведена с использованием широкого спектра современных методов, содержит уникальные результаты, и является законченной научно-квалификационной работой. Все сформулированные выводы обоснованы и логично следуют из полученных автором результатов. Оформление работы отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертация Клабукова Ильи Дмитриевича «Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей» по актуальности, новизне, научному и методическому уровню, научно-практической значимости и достоверности полученных результатов полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения

учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016), а ее автор заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология.

«27» ноября 2018 г.

Заведующий лабораторией бионанотехнологий

ФГБУ "НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова" Минздрава России,

д.б.н., профессор

Тел.: 84991906619

E-mail: igor_agarov@mail.ru

И.И. Агапов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Адрес: 123182, г. Москва, Щукинская улица, дом 1. Тел.: +7 (495) 544-18-00. E-mail: priemtranspl@yandex.ru. Web: www.transpl.ru/

Подпись доктора биологических наук Агапова Игоря Ивановича заверяю.

Ученый секретарь

ФГБУ "НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова" Минздрава России,

к.м.н.



Д.А. Великий