

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

заместителя заведующего лабораторией специальных клеточных технологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)»

доктора медицинских наук

Темнова Андрея Александровича

на диссертацию Островского Дмитрия Сергеевича «Разработка способов конструирования искусственной роговицы на основе 3D клеточных сфероидов и полимерных материалов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.03 – Патологическая физиология, 14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы

Актуальность темы выполненной работы

Представленная работа посвящена одной из наиболее важных медико-социальных проблем – лечению заболеваний роговицы, характеризующихся потерей ее прозрачности. Повышенный интерес к данной тематике обусловлен увеличением числа пациентов с данным заболеванием, при этом важно отметить, что значительная часть пациентов — это люди молодого трудоспособного возраста.

На сегодня основным методом лечения данной группы заболеваний является кератопластика - трансплантация донорской роговицы реципиенту. Однако проблемы, связанные с забором и заготовкой донорской роговицы, а также высокий риск развития осложнений, таких как реакция отторжения трансплантата, обуславливают необходимость поиска новых методов лечения данной нозологии.

Одним из наиболее перспективных направлений современной регенеративной медицины является создание искусственной роговицы. Важно отметить, что под этим термином понимают использование

различных полимерных и биосинтетических материалов, а также клеточных культур с целью восстановления полной структуры и функции роговицы. Вместе с тем на сегодня до сих пор остается нерешенным вопрос сохранения уникальных морфологических и функциональных характеристик кератоцитов и клеток заднего эпителия роговицы в условиях *in vitro*. Кроме того, остается открытым вопрос подбора наиболее оптимального материала, отражающего в полной мере все функции нативной роговицы.

Научная новизна полученных результатов

Диссертантом на основе анализа экспериментального материала разработан оригинальный протокол выделения кератоцитов, позволяющий увеличить количество и жизнеспособность получаемых клеток из стромы роговицы.

При подборе питательных сред для культивирования кератоцитов и клеток заднего эпителия роговицы были изучены различные комбинации культуральных сред с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки и факторов роста, что позволило выявить подходящий состав полной питательной среды, для сохранения морфологических и функциональных особенностей указанных клеток.

Автором впервые показана возможность создания 3D клеточных сфероидов из клеток заднего эпителия роговицы. Проведенное иммуногистохимическое исследование продемонстрировало сохранность эпителиального фенотипа полученных сфероидов, а также их функциональную активность, что было показано на примере экспрессии маркера Na/K АТФазы.

В ходе данной работы был проведен анализ и отбор полимерных материалов пригодных для создания искусственной роговицы. На основе проведенных исследований, было установлено что фиброина шелка является оптимальным материалом для создания искусственной роговицы и в совокупности с 3D клеточными сфероидными кератоцитов может быть

использован для получения слоистой структуры элемента искусственной роговицы.

Все вышесказанное, несомненно, определяет практическую значимость работы, которая заключается в разработке способов конструирования искусственной роговицы и может внести существенный вклад в регенеративную медицину, а именно в разработку метода создания искусственной роговицы.

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 методических подходов: оценка жизнеспособности клеточных культур методами флуоресцентной окраски, иммуногистохимических исследований, а также проведением метода «ДНК – комет». В работе было использовано 27 донорских роговиц непригодных для трансплантации. Для отработки методики создания 3D клеточных сфероидов, а также для изучения их морфофункциональных особенностей, было создано 5 120 и 1 620 3D сфероидов из кератоцитов и клеток заднего эпителия роговицы соответственно.

Общая структура и содержание диссертационной работы

Диссертация Островского Д.С. написана по традиционному плану, материал изложен на 145-и страницах и структурирована по требованиям ВАК. Материалы диссертации содержат 55 рисунков и 19 таблиц, которые помогают читателю в лучшем восприятии содержания работы. Диссертация состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы

экспериментальных исследований», «Результаты», «Заключение» и «Выводы».

В главе «Обзор литературы» дана общая характеристика рассматриваемой в работе проблемы и приводится детальное описание имеющихся на сегодня подходов к созданию искусственной роговицы, а также их ключевые недостатки, требующие дальнейшего изучения.

В главе «Материалы и методы экспериментальных исследований» подробно излагаются особенности использования каждой методики.

Глава «Результаты» посвящена подробному изложению полученных в работе научных результатов, материал логически структурирован для лучшего восприятия читателем.

Выводы исследования закономерно вытекают из анализа полученных результатов, обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов

Полученные автором результаты опубликованы в 9-и печатных работах, в том числе 4 работы в изданиях рекомендованных ВАК. Основные положения проведенного исследования имеют высокую научно-практическую значимость и могут быть использованы при проведении дальнейших экспериментальных разработок искусственной роговицы.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

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

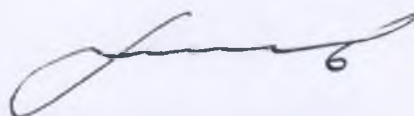
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Островского Дмитрия Сергеевича на тему «Разработка способов конструирования искусственной роговицы на основе 3D клеточных сфероидов и полимерных материалов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится новое решение актуальной задачи – создание искусственной роговицы на основе полимерных материалов и 3D клеточных культур кератоцитов и клеток заднего эпителия роговицы.

Результаты исследования имеют большое значение для трансплантологии, офтальмологии и клеточной биологии.

Диссертация соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21 апреля 2016 г.), а ее автор, Островский Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.03 – Патологическая физиология и 14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы.

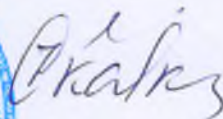
Заместитель заведующего Лабораторией
специальных клеточных технологий
Федерального государственного автономного
Образовательного учреждения высшего образования
«Московский физико-технический институт
(государственный университет)»
доктор медицинских наук



Темнов А.А

Подпись д.м.н., Темнова Андрея Александровича заверяю

Ученый секретарь
Федерального государственного автономного
Образовательного учреждения высшего образования
«Московский физико-технический институт
(государственный университет)»
кандидат физико-математических наук



Скалько Ю.И.

27.02.2019

Сведение об учреждении:
название: Федеральное государственное автономное образовательное
учреждения высшего образования «Московский физико-технический
институт (государственный университет)»;
почтовый индекс 141701;
адрес: Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., дом 9;
сайт: <https://mipt.ru>;
тел.: +7(495) 408-45-54