

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Жарковой Ирины Игоревны на тему: «МАТРИКСЫ ИЗ БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО СОПОЛИМЕРА ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА С ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ ДЛЯ ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Актуальность темы исследования

В настоящее время биodeградируемые природные полимерные материалы очень широко исследуются как наиболее перспективные матриксы для иммобилизации биологически активных веществ, а также для выращивания стволовых клеток с целью применения в различных областях медицины.

Целью диссертационной работы Жарковой Ирины Игоревны была разработка и исследование пористых полимерных конструкций на основе сополимера поли-3-оксибутирата – со – полиэтиленгликоля для инженерии костной ткани.

Учитывая достоинства и недостатки различных биodeградируемых полимеров, автором выбраны: полимер из класса полиэфиров, а именно поли-3-оксибутират (ПОБ) и полиэтиленгликоль (ПЭГ). ПОБ – полимер микробиологического происхождения, по сравнению с другими природными биodeградируемыми полимерами, например, на основе белков (желатина) или из класса полисахаридов (хитозан), имеет преимущества по физико-химическим, механическим и биологическим свойствам. ПОБ обладает высокой механической прочностью, что позволяет получать широкий спектр изделий, имеет способность к образованию композитов с синтетическими полимерами, неорганическими материалами и лекарственными веществами, способен к полному биоразложению с образованием нетоксичных продуктов,

обладает биосовместимостью и экологической безопасностью. Однако ПОБ имеет недостатки: высокая гидрофобность и кристалличность, длительная биodeградация и низкая пластичность, что в ряде случаев может ограничить его применение в качестве биоинженерного материала. ПЭГ обладает высокой гидрофильностью, эластичностью, а сочетание этих полимеров может привести к созданию новых усовершенствованных вариантов сополимеров ПОБ или его композиций биомедицинского назначения с оптимальным сочетанием физико-химических, механических и биологических свойств. Создание таких биоматериалов является перспективным направлением в современной биоинженерии, т.к. несмотря на активное развитие тканевой инженерии и заместительной терапии, на сегодняшний день проблема поиска узкоспециализированных имплантатов остается нерешенной для многих областей этого направления, в том числе инженерии костной ткани.

Кроме того, в современной науке значительное внимание уделяется совершенствованию клеточных технологий, в основе которых лежит культивирование донорных клеток на каком-либо носителе с их последующей имплантацией. Использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в настоящее время является одним из ключевых направлений в клеточной терапии благодаря тому, что они легко выделяются из тканей, иммунологически толерантны, а также способны к мультипотентной дифференцировке.

Так как свойства биоматериалов зависят не только от состава, но и от структуры (например, пористости), то в работе поставлена задача получить и исследовать пористые матриксы на основе выбранных полимеров и оценить, насколько полученные конструкции оптимальны для использования в качестве подложек для культивирования клеток.

В связи этим представленная работа Жарковой И.И., посвященная созданию пористых полимерных матриксов на основе сополимера поли-3-оксибутирата и полиэтиленгликоля и изучению их биологических свойств с

использованием различных культур клеток, в том числе МСК, соответствует современным тенденциям развития биомедицинской науки и, несомненно, является актуальным исследованием.

Научная новизна, практическая значимость и достоверность результатов

Несмотря на то, что работа основывается на известных полимерах - ПОб, ПЭГ, автор нашел пути усовершенствования их свойств и, таким образом, получения новых вариантов пористых полимерных конструкций на основе сополимеров поли-3-оксибутирата-со-полиэтиленгликоля и композитов на основе ПОб и ПЭГ для инженерии костной ткани.

Новизна содержится во всех решениях каждой из поставленных в работе задач:

- получение сополимера ПОб с ПЭГ и других сополимеров ПОб методом микробиологического синтеза и изучение их свойств в сравнении с гомополимером ПОб и композитом ПОб/ПЭГ;
- разработка и выбор методики создания пористых матриксов из сополимеров ПОб-ПЭГ, гомополимера ПОб и композита ПОб/ПЭГ;
- изучение морфологии, физико-химических свойств и биосовместимости полученных матриксов;
- исследование роста и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в остеогенном направлении *in vitro* на полученных матриксах;
- исследование тканевой реакции на имплантацию матрикса, а также способности матриксов поддерживать рост костной ткани *in vivo*.

Так, в ходе данной работы из нескольких сополимерных материалов, впервые полученных с использованием штамма *Azotobacter chroococcum* 7В, был выбран ПОб-ПЭГ как обладающий максимальными параметрами гидрофильности и впервые были исследованы свойства этого сополимера (ПОб-ПЭГ) в сравнении с ПОб и композитом ПОб/ПЭГ. Изучены сходство и

различие в морфологии полимерного материала не только на физическом уровне, но и его ультраструктуры с помощью атомно-силовой микроскопии. Впервые был разработан метод получения пористых плоских матриксов из ПОБ-ПЭГ. Подобраны оптимальные условия для культивирования МСК на его поверхности как при нормальных условиях, так и при стимуляции их дифференцировки по остеогенному пути. Впервые изучена тканевая реакция при имплантации и показана эффективность использования пористых матриксов из сополимера ПОБ-ПЭГ в стимуляции остеогенеза.

Выполненная работа может служить основой для дальнейших исследований в этом направлении. Прогресс в данной области будет зависеть от степени понимания механизмов клеточного хемотаксиса, свойств материалов, которые требуют дальнейших изучений (например, *in vivo* на крупных животных, микробиологические, выбор способа стерилизации и др.).

В настоящее время пока нет ни одного изделия, которое может удовлетворить разнообразные потребности инженерии костной ткани. Тем не менее, представленная работа имеют практическую значимость, т.к. получены обнадеживающие положительные результаты опытов *in vitro* и *in vivo* на мелких животных, показывающие развитие остеогенеза при внутрикостной имплантации пористых матриксов. На основании этих результатов можно предположить практическое использование разработанных конструкций в тканевой инженерии, в частности, с целью разработки новых медицинских изделий для челюстно-лицевой хирургии, в качестве подложек для быстрой регенерации костной ткани, в качестве изолирующих мембран (как биофизический барьер).

Достоверность результатов определяется применением широкого спектра методов исследования, в полной мере соответствующих поставленным задачам, подтверждается проведенным статистическим анализом и наличием достаточного числа публикаций в рецензируемых научных изданиях. По материалам диссертации опубликовано 6 статей, из

них 3 статьи в журналах из перечня ВАК РФ, 2 статьи в зарубежных рецензируемых журналах, 4 статьи в сборниках статей по материалам конференций (1 российская, 3 международных).

Все научные положения диссертации нашли свое отражение в ее тексте. Формулировки выводов и рекомендаций подтверждены экспериментальными результатами и проанализированы в сравнении с литературными данными. Обоснованность результатов определяется значительным объемом экспериментальных данных: результатами анализа различных полимерных материалов, отработкой методики создания матрикса, результатами исследования с использованием клеточных культур и лабораторных животных, гистологическими исследованиями.

Анализ содержания диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, представления результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 215 ссылок, из которых 197 на иностранном языке. Работа изложена на 158 страницах, включает 36 рисунков.

Во введении четко сформулированы необходимость проведения исследований по созданию и изучению пористых полимерных матриксов из полиоксиалканоатов. Цель работы сформулирована как разработка и исследование пористых полимерных конструкций на основе сополимера поли-3-оксибутирата-со-полиэтиленгликоля для инженерии костной ткани. Четко сформулированы объект и предмет исследования, базовые методы, положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость работы.

Глава «Обзор литературы» включает 5 разделов, которые посвящены истории применения биоматериалов, а также описанию их современных видов; строению и получению поли-3-оксибутирата и сополимеров на его основе; обзору матриксов для тканевой инженерии костной ткани;

мезенхимальным стволовым клеткам, а также современному состоянию такого раздела медицины, как тканевая инженерия костной ткани. Обзор литературы написан хорошим грамотным литературным языком. Его отличает четкая последовательность очень большого по информационной насыщенности материала.

В главе «Материалы и методы» описаны использованные многочисленные методы исследования, экспериментальные материалы и оборудование, которые позволили автору полностью выполнить поставленные задачи. Следует подчеркнуть многообразие использованных в работе методов и высокую трудоемкость выполненных автором исследований. В работе нашли отражение как микробиологические методы, так и методы работы с эукариотическими клетками; широко представлены физические методы исследования материалов (атомно-силовая микроскопия, дифференциально - сканирующая калориметрия, сканирующая электронная микроскопия и др.), биохимические и иммунологические методы для качественного и количественного анализа клеток (колориметрический тест ХТТ, тест на щелочную фосфатазу, проточная цитометрия), описаны методы работы с лабораторными животными.

Глава «Результаты и их обсуждения» содержит четыре раздела. В первом разделе описан процесс синтеза поли-3-оксибутирата и его сополимеров с использованием культуры *Azotobacter chroococcum* 7. Для получения сополимеров в среду для культивирования добавляли определенные молекулы-предшественники. В частности, для синтеза используемого в работе сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем в культуральную среду вносили ПЭГ-300 в концентрации 150 мкМ. Показано, что вхождение звеньев этиленгликоля при таком способе составило 0,33% по молярному содержанию.

Во втором разделе приводится комплексное исследование выбранного сополимера в сравнении с поли-3-оксибутиратом (ПОБ) и композитом ПОБ и ПЭГ. Показано, что сополимер отличается по свойствам от двух материалов

сравнения, показывая средние между ними значения по параметрам контактного угла смачивания (гидрофильность), водопоглощения, кристалличности и модуля Юнга, а также показывая сходство с композитом в укладке полимерных цепей. Таким образом, сополимер, имеющий всего 0,33% по молярному содержанию включения звеньев этиленгликоля, значительно отличается от гомополимера по физико-химическим свойствам и по строению на уровне полимерных нитей.

В третьем разделе сравниваются три типа пористых матриксов, полученных на основе поли-3-оксибутирата методом выщелачивания, различающиеся выбранным порогеном. В результате проведенных экспериментов на биосовместимость в качестве матрикса для дальнейшей работы был выбран матрикс с использованием карбоната аммония в качестве порогена.

Четвертый раздел состоит из нескольких частей, включающих полное исследование матрикса из ПОБ-ПЭГ. Следует отметить логичность и плановость исследования, построенного последовательно от анализа физико-химических свойств и заканчивая имплантацией в живой организм. Показано, что матрикс из сополимера является более гидрофильным, чем полимер ПОБ, но менее гидрофильным, чем композит ПОБ/ПЭГ. Исследования на цитотоксичность и анализ роста и пролиферации клеток на самих полимерных матриксах с использованием таких клеточных культур, как МСК, COS-1 и 3Т3 доказывают отсутствие токсичности матриксов. А исследования культивирования на матриксах МСК, стимулированных к дифференцировке по остеогенному направлению, демонстрируют способность матриксов поддерживать рост клеток и в данных условиях. Однако МСК, культивируемые на матриксе из сополимера, демонстрируют меньшую степень дифференцировки по остеогенному пути в сравнении с клетками, культивируемыми на матриксах и гомополимера и композита.

Автором приводится заключение о возможной биоинертности матрикса из сополимера. Завершается раздел результатами имплантации пористых

структур в костную ткань мелким животным на сроках наблюдения до 180 суток. По данным гистологического исследования делается вывод, что пористые матриксы из биосинтетического сополимера ПОБ-ПЭГ способствуют росту костной ткани в объеме матрикса и вызывают нормальную тканевую реакцию при их имплантации в костную ткань.

В заключении подводится итог проделанной работы. Сделанные диссертантом выводы соответствуют цели и задачам исследования и отражают его результаты.

Достоинство и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Работа отличается высокой практической значимостью. Видна хорошая профессиональная подготовка автора в предметной области. Текст диссертации и реферат написаны грамотно, доступным языком, сопровождаются иллюстративными материалами. Описание полученных данных сопровождается анализом близкого экспериментального материала из научных публикаций, что вызывает доверие к самой работе.

К замечаниям, не снижающим ценность полученных в диссертации данных и сделанных автором выводов, можно отнести следующие:

1. Из раздела «Материалы и методы» не вполне понятна степень очистки используемых полимерных материалов.

2. Недостаточно подробно объяснен выбор состава композита – соотношение ПОБ и ПЭГ 70:30.

3. Значительное внимание автора, по праву, уделено оценке способности поверхности биоматериалов адсорбировать белок, а именно альбумин, но не очень четко сформулирована значимость этого параметра.

4. Судя по представленным результатам, пористость матриксов имеет ключевое значение как при их функционировании в качестве подложек для культивирования клеток, так и в качестве имплантатов. Почему не использовались для сравнения другие методы определения пористости матриксов?

**Заключение о соответствии диссертации критериям,
установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Автореферат отражает основное содержания диссертации, выводы и рекомендации, отвечает требованиям ВАК РФ.

Диссертация Жарковой Ирины Игоревны «Матрикс из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи создания биосовместимого полимерного пористого матрикса для культивирования культур клеток в объеме для биотехнологии и тканевой инженерии. По актуальности темы исследования, степени обоснованности научных положений и выводов, научной новизне и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 с изменением Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 года № 335, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Новикова Светлана Петровна,
доктор биологических наук, профессор,
ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

 С.П.Новикова

Подпись доктора биологических наук, профессора ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России С.П. Новиковой заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России,
д.м.н.



13.03.2017

Сведения об официальном оппоненте Новикова Светлана Петровна по диссертационной работе Жарковой Ирины Игоревны на тему: «Матрикс из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Фамилия, имя, отчество	Новикова Светлана Петровна
Гражданство	Российская Федерация
Ученая степень (с указанием отрасли науки и научных специальностей и шифра, по которым защищена диссертация)	Доктор биологических наук. Отрасли науки и научные специальности: химические - высокомолекулярные соединения; медицинские - трансплантология и искусственные органы. Шифр: 14.01.24, 02.00.06
Основное место работы	
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента на момент представления им отзыва	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный научно-практический центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Адрес организации	121552, Москва, Рублевское шоссе, дом 135
Телефон	8(495)4147944
Адрес электронной почты:	spnovikova@bakulev.ru
Должность	Заведующая лабораторией

Список публикаций за последние 5 лет:

1. Иванцова Е.Л., Косенко Р.Ю., Иорданский А.Л., Роговина С.З., Филатова А.Г., Гумаргалиева К.З., Новикова С.П., Берлин А.А. Структура и пролонгированный транспорт в системе биodeградируемый поли(г-3-гидроксибутират) - лекарственное вещество // Высокомолекулярные соединения. – М.: Издательство Наука / Интерпериодика МАИК.- 2012.- Серия А. - Том 54.- №2.- С. 215-223.
2. Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Лосева С.В., Николашина Л.Н., Левкина А.Ю. Анализ физико-механических и структурных характеристик протезов кровеносных сосудов // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.- М.: ОАО «Издательство «Медицина».- 2012. – Т.4.- С. 27-33.

3. Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Лосева С.В. Обеспечение биологической безопасности имплантируемых медицинских изделий // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». - М.: НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН.- 2012.- Т.13.- №2.- С. 64-69.
4. Патент RU 2452516, 2012 г., бюл.№16, заявка №2010141361 от 08.10.2010, русский. Способ модифицирования поверхности эндокардиальных электродов. Авторы: Бокерия Л.А., Новикова С.П., Лосева С.В., Кислиновская Н.В., Шустрова О.В., Салохединова Р.Р. Патентообладатель: Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН.
5. Патент RU 2462273, 2012 г., заявка № 2011119527 от 16.05.2011, русский. Способ обработки синтетических текстильных имплантируемых медицинских изделий, контактирующих с кровью. Авторы: Бокерия Л.А., Новикова С.П., Лосева С.В., Шустрова О.В. Патентообладатель: Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН.
6. Бокерия Л.А., Абдулгасанов Р.А., Аракелян В.С., Новикова С.П., Рахимов А.А., Гамзаев Н.Р., Папиташвили В.Г., Гидаспов Н.А. Отечественные эксплантаты и заплаты «БАСЭКС» в реконструктивной хирургии сердца и сосудов // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.- 2014. – №. 2. – С. 21-27.
7. Патент RU 2519103, 11.04.2014 г., заявка № 2012134520 от 13.08.2012. Дата публикации 10.06.14, бюл. №16, русский. Биорезорбируемая гидрогелевая полимерная композиция с биологически активными веществами (варианты). Авторы: Бокерия Л.А., Новикова С.П. Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева» Российской академии медицинских наук.
8. Бокерия Л.А., Новикова С.П., Бокерия О.Л., Костров В.И., Салохединова Р.Р., Николашина Л.Н., Шустрова О.В., Сивцев В.С. Пленочные композиции на основе желатина, структурированные разными способами // Бюллетень НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».- 2014.-Т.15.-№4.- С. 60-72.

9. Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Николашина Л.Н., Шустрова О.В., Сивцев В.С. Изучение свойств пленочных композиций на основе желатина и колхицина // Клиническая физиология кровообращения.-2014.-№3.-С.57-66.
10. Bokeriya, L. A., Bokeriya, O. L., Sivtsev, V. S., Novikova, S. P., Salokhedanova, R. R., Nikolashina, L. N., Samsonova N. N., Gorodkov A. Yu., Serov, R. A. Experimental Evaluation of Biodegradable Film Compositions Based on Gelatin with Colchicine //Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Т. 161. – №. 3. – С. 414-418.
11. Бокерия Л.А., Городков А.Ю., Новикова С.П., Бритиков Д.В., Фадеев А.А. Достижения экспериментальной кардиохирургии в ФГБУ "Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева" Минздрава России за последние 10 лет // Бюллетень НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».- 2016.- Т.17.- №3.- С. 145-158

Ученый секретарь

ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России,

д.м.н.

Н.О. Сокольская

дата:



Отзыв официального оппонента

на диссертацию Жарковой Ирины Игоревны на тему: «Матрицы из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани», предоставленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Актуальность темы исследования. Работа Жарковой И.И. посвящена разработке и исследованию пористых полимерных матриц на основе сополимера поли-3-оксибутирата-со-полиэтиленгликоля (ПОБ-ПЭГ), гомополимера поли-3-гидроксибутирата (ПОБ) и композита поли-3-гидроксибутирата и полиэтиленгликоля (ПОБ/ПЭГ) для инженерии костной ткани.

В ходе работы были разработаны новый метод биосинтеза сополимера поли-3-оксибутирата с 4-метилвалератом (ПОБ4МВ) с использованием штамма *Azotobacter chroococcum* 7B и изучение его физико-химических свойств. Разработка новых методов биосинтеза, так же, как и поиск новых биополимеров остается одной из актуальнейших задач современной биотехнологии.

Большая часть работы посвящена методам создания пористых матриц из полученного сополимера и материалов сравнения – гомополимера поли-3-оксибутирата (ПОБ) и его композита с полиэтиленгликолем ПОБ/ПЭГ. Была исследована морфология, физико-химические свойства и биосовместимость полученных матриц.

Улучшение биосовместимости материалов является одной из первоочередных задач у современных исследователей. В разделе работы, посвященной исследованию биосовместимости представлены результаты роста мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и их дифференцировки в остеогенном направлении *in vitro* на полученных матрицах. Показана способность матриц поддерживать рост костной ткани в условиях *in vivo*.

Эта тема, а именно изучение новых биополимерных материалов и создание на их основе новых матриц, весьма актуальна для современной биотехнологии. Работа, проделанная в рамках диссертации, является необходимой частью направления тканевой инженерии посвященной созданию пористых матриц из биосовместимых полимеров, разработке методик по культивированию клеток на подложках для биотехнологии и медицины.

Достоверность результатов, полученных в работе Жарковой И.И., обеспечивается использованием современных микробиологических, физико-химических, биохимических, иммунологических, гистологических методов исследования. Обоснованность научных положений определяется значительным объемом экспериментальных данных: результатами данной работы являлась разработка и исследование пористых полимерных конструкций на основе сополимера поли-3-оксибутирата-сополиэтиленгликоля для инженерии костной ткани.

Тестирование всех предлагаемых для создания пористых матриц материалов было проведено с использованием большого количества лабораторных методов, результаты статистически достоверны. Дальнейшие эксперименты по исследованию физико-химических свойств и биосовместимости полученных пористых матриц было выполнено корректно. Надежность полученных результатов подтверждается воспроизведением результатов в нескольких сериях экспериментов, использованию необходимых контролей, применением специального оборудования и статистической обработки данных.

К **научной новизне** можно отнести разработку нового метода получения сополимера поли-3-оксибутирата с метилвалериановой кислотой с использованием штамма *Azotobacter chroococcum* 7B. В ходе сравнения различных полимеров, полученных микробиологическим путем, по параметру гидрофильности сополимер ПОБ-ПЭГ был выбран как самый гидрофильный.

Впервые были исследованы свойства этого сополимера (ПОБ-ПЭГ) в сравнении с ПОБ и композитом ПОБ/ПЭГ. Изучены сходство и различие не только в морфологии полимерных материалов и их физико-химических свойств, но также показана разница в их ультраструктуре с помощью атомно-силовой микроскопии. Впервые был разработан метод получения пористых плоских матриц из ПОБ-ПЭГ. Важнейшее значение при разработке таких матриц приобретает как биоматериал, из которого он изготовлен, так и микроструктура каркаса. Автором было показано, что при изменении условий углеродного питания штамма продуцентов приводит к синтезу не только гомополимеров, но и многокомпонентных полиоксиалканоатов, что может существенно изменять физико-химические свойства получаемых биополимеров, и приводить к получению новых материалов.

Также впервые была показана не только биобезопасность нового пористого матрикса, но и, его способность к поддержанию остеогенеза а также отсутствие формирования фиброзной капсулы при его имплантации в костную ткань.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена тем, что все изучаемые материалы проявляют хорошие показатели биосовместимости и могут быть использованы в тканевой инженерии. По итогам первичных исследований полученных сополимеров, для дальнейшей работы был выбран двойной сополимер ПОБ-ПЭГ как имеющий наименьший угол смачивания с водой и, соответственно, обладающий наиболее выраженными гидрофильными свойствами. Была показана высокая биосовместимость матрикса из двойного сополимера ПОБ-ПЭГ, способность к адсорбции белка. Получен новый вид пористых плоских матриц, пригодный для культивирования МСК как нативных, так и дифференцированных по остеогенному пути. Разработанные биополимерные конструкции могут быть рекомендованы к использованию в инженерии

костной ткани в качестве изолирующих мембран или в качестве подложек для ускорения регенерации костной ткани.

Рекомендации по возможности применения разработанных матриц обоснованы как актуальностью проблемы поиска новых носителей для тканевой инженерии, так и экспериментальными данными их биосовместимости.

Содержание диссертации, ее завершенность. Диссертация состоит из введения, основной части, которая включает в себя литературный обзор, материалы и методы, результаты экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Текст диссертации и реферат написаны доступным языком, сопровождаются иллюстративными материалами. Всего в тексте 36 рисунков, в том числе 15 диаграмм и графиков, большое количество микрофотографий, гистологических и иммунохимических исследований сопровождаемых подробным описанием. Описание полученных данных сопровождается анализом близкого экспериментального материала из научных публикаций, что вызывает доверие к самой работе

Во введении четко сформулированы необходимость проведения работ по разработке и исследованию материалов микробиологического происхождения, таких как ПОВ, его гомо- со- полимеры и композиты с другими полимерами. Наряду с проблемой выбора материала освещена необходимость поиска оптимальной формы полимерной конструкции. Четко сформулированы объект и предмет исследования, базовые методы, научная новизна и практическая значимость работы. В конце данного раздела Жаркова И.И. формулирует цель работы и 6 основных задач.

В обзоре литературы представлена история развития биоматериалов, используемых для тканевой инженерии, их разнообразие по составу, способу производства и строению. Отдельный акцент в обзоре литературы автор делает на полимерных матрицах, используемых для инженерии костной ткани. Подробно описаны различные методы получения пористых матриц из

биополимеров. Так же присутствует раздел, посвященный мезенхимальным стволовым клеткам (МСК), в котором автор обосновывает выбор данной культуры для своих экспериментов по проверке биосовместимости разрабатываемых конструкций.

В разделе «Материалы и методы» указан широкий спектр используемых методов исследования от культивации микробиологической культуры и получения полимерных материалов до гистологического исследования имплантируемых матриц, созданных на базе этих материалов, описаны современные микробиологические, физико-химические, биохимические, иммунологические, гистологические методы исследования, что свидетельствует о высоком методическом уровне и методических навыках соискателя. В работе используется современное высокотехнологичное оборудование и химические реагенты зарекомендовавших себя производителей.

В «Результатах и их обсуждениях» дается характеристика нового полученного материала ПОВ4МВ, приводится аргументация выбора материала для создания пористых матриц для инженерии костной ткани, Работа по исследованию полимерного матрикса из ПОВ-ПЭГ представлена в полном объеме – от получения до испытаний на лабораторных животных. Обсуждения полученных результатов подкреплены ссылками на литературные источники. Показано, что пористый матрикс из сополимера ПОВ-ПЭГ отличается по свойствам от матриц из гомополимера и композита, демонстрируя промежуточные характеристики практически во всех представленных исследованиях. Автор подчеркивает его особенности в каждом разделе комплексного исследования, что облегчает восприятие проделанной работы.

В заключении кратко подводится итог проделанной работы по созданию и изучению полимерных матриц для инженерии костной ткани. Отмечается, что методами изучения ультроплёнок из получаемых материалов были показаны отличия в их строении и свойствах. В то же время

подчеркивается, что способ производства матриксов из изучаемых биополимеров не влияет на кристалличность полученных конструкторов. В конце раздела Ирина Игоревна подчеркивает возможность применения пористого матрикса из ПОБ-ПЭГ, как матрицы для роста остеобластоподобных клеток в объеме.

Далее следуют **выводы** по результатам проделанной исследовательской работы. Всего выводов 7, они соответствуют задачам, поставленным автором в начале работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом.

Работа отличается высокой практической значимостью. В ее характере чувствуется хорошая практическая профессиональная подготовка автора в предметной области. И.И. Жаркова в ходе выполнения работы использовала множество методов относящихся к разным разделам биологии: методы микробиологического синтеза, различные методики производства матриксов, методы исследования материалов, методы клеточной биологии, сканирующей, конфокальной и флуоресцентной микроскопии и методы изучения биосовместимости в животных моделях..

К недостаткам можно отнести следующие:

Обзор литературы написан отчасти как историческая справка по истории использования биоматериалов в тканевой инженерии и возможно в связи с этим в нем представлено значительное количество ссылок на классические работы. Однако, хотелось бы видеть больше актуальных на данный момент времени работ зарубежных и отечественных исследователей как в обзоре литературы так и в обсуждении результатов.

В разделе «Результаты» некоторые из представленных графиков и диаграмм представлены слишком мелко, что очень затрудняет их прочтение. Так, на рисунке 5, где представлены результаты ядерно-магнитно

Таким образом, диссертация И.И. Жарковой на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи оптимизации по созданию биосовместимого полимерного пористого матрикса, использованию его в качестве подложки способствующей остеогенной дифференцировке и как импланта для инженерии костной ткани, что соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени.

Роговая Ольга Сергеевна

Кандидат биологических наук

Научный сотрудник лаборатории клеточной биологии

Института биологии развития им.Н.К. Кольцова РАН



/ Роговая О.С.

Подпись кандидата биологических наук, н.с. ИБР РАН Роговой О.С. заверяю:

Ученый секретарь ИБР РАН

К.б.н.,



Хабарова М.Ю.

Сведения об официальном оппоненте Роговой Ольге Сергеевне по диссертационной работе Жарковой Ирины Игоревны на тему: «Матрикс из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани», предоставленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Фамилия, имя, отчество	Роговая Ольга Сергеевна
Гражданство	Российская Федерация
Ученая степень (с указанием отрасли науки и научных специальностей и шифра, по которым защищена диссертация)	Кандидат биологических наук, Специальность: 03.03.04. Цитология, гистология, клеточная биология
Основное место работы	
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента на момент представления им отзыва	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Адрес организации.	119334, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 26. ИБР РАН
Телефон	8(499)1354081
Адрес электронной почты:	Rogovaya26f@gmail.com
Должность	Н.с.

Список публикаций:

1. **Роговая О.С.,** Киселева Е.В., Дашинимаев Э.Б., Щипицына В.С., Файзуллин Р.Р., Васильев А.В., Суханов Ю.В., Терских В.В. Исследование влияния перфторуглерода (ПФУ) в составе живого эквивалента кожи (ЖЭК) на процесс регенерации кожных ран в модели лабораторных животных // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011. №5. С. 169-173.

2. **Роговая О.С.**, Файзулин А.К., Васильев А.В., Кононов А.В., Терских В.В. Реконструкция эпителия уретры кролика с помощью кератиноцитов кожи // Acta Natura. 2015. Т.7. №1 (24). С.74-81.

3. Файзулин А. К., И. В. Поддубный, А. В. Кононов, С. Г. Врублевский, О. С. Шмыров, Е. В. Федорова, П. А. Колосова, **О. С. Роговая**, Л. А. Стрелкина. Пластика мочеиспускательного канала с использованием аутологичных кератиноцитов на биodeградирующем матриксе у детей с проксимальными формами гипоспадии // Андрология и генитальная хирургия. 2016. Т 17. С. 85-97.

4. **Роговая О.С.**, Петракова О.С., Гвазава И.Г., Борисов М.А., Васильев А.В. Исследование жизнеспособности культивируемых клеток человека в суспензии Вестник Московского Университета, Серия 16: Биологическая, 2016, №3, С.44-48

Ученый секретарь

ИБР РАН

К.б.н.

  Хабарова М.Ю.
дата: 10.03.2017