

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Афанасьева Сергея Александровича на диссертацию Товпеко Дмитрия Викторовича «Разработка и исследование компонентного состава тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека для регенеративной медицины», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности, 1.5.6. Биотехнология.

Актуальность темы исследования

Исследования последних десятилетий продемонстрировали высокий потенциал регенеративной медицины применительно к восстановлению структуры и функции повреждённых биологических тканей. Однако развитие регенеративной медицины показало, что её ориентация на использование клеточных продуктов далеко не всегда оправдана. Это обусловлено трудностями получения биологического донорского материала, выделения клеток, определения их принадлежности к конкретным фенотипам, масштабирования, хранения и последующего использования, а также приживления в организме реципиента.

Существенное улучшение результатов стало возможным при использовании тканеинженерных конструкций, когда клеточный материал имплантируется вместе с межклеточным матриксом. Параллельно было показано, что природный межклеточный матрикс имеет сложный химический состав, компоненты которого способны выступать в качестве хемоаттрактантов для прогениторных клеток и влиять на их пролиферативную активность и дифференцировку. Именно это стало толчком к исследованию возможности использовать бесклеточные биоматериалы для стимуляции процессов регенерации и разработке технологии их получения.

Важными преимуществами продуктов из децеллюляризованного внеклеточного матрикса является длительное сохранение их биологических характеристик, возможность создания запасов медицинских изделий, надежная неразрушительная стерилизация и простота использования. Ряд зарубежных компаний уже предлагают такие коммерческие продукты для применения в травматологии и ортопедии. В Российской Федерации в этом направлении работают Институт экспериментальной медицины и биотехнологий при СамГМУ (г. Самара), ООО «Конектбиофарм» (г. Москва), компания «МедИнж» (г. Пенза) и целый ряд других организаций. Практический интерес к использованию биологического бесклеточного матрикса при стимуляции процессов регенерации у человека, делает актуальным вопрос об источнике материала для его получения.

На основании данных о сложном химическом составе межклеточного матрикса, его изменениях с возрастом и при хронических заболеваниях, есть основания говорить о предпочтительном использовании аллогенного материала от возможно молодых и здоровых доноров. С учетом этого, ткани провизорных органов, утрачивающих свои функции после рождения ребенка, имеют очевидные преимущества и привлекают всё большее внимание исследователей как источник получения клеток и внеклеточного матрикса для стимуляции регенеративных процессов. В этом отношении, работа Д.В. Товпеко, безусловно, является актуальной и своевременной.

Научная и практическая значимость работы

В диссертационной работе представлены новые и оригинальные результаты. Прежде всего, изучено влияние децеллюляризирующих агентов и факторов на морфологическую структуру и состав Вартонова студня пуповины человека. В условиях *in vitro* исследованы гемо- и цитосовместимость тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека. На основании полученных данных, разработан лабораторный регламент на производство тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека. Предложенная методология позволяет

стандартизировать процесс производства, обеспечивая его воспроизводимость и соответствие требованиям надлежащей производственной практики (GMP). Это может значительно ускорить масштабирование технологии и её внедрение в промышленное производство, что особенно важно для создания конкурентоспособных отечественных разработок в условиях растущего спроса на инновационные биоматериалы.

Предложен способ применения бесклеточного лиофилизированного продукта из пуповины человека для заживления ран. Результаты исследований уже внедрены в клиническую практику для лечения пациентов с повреждениями различной этиологии.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа подготовлена в соответствии с требованиями ВАК, содержит введение, обзор литературы по изучаемому вопросу, главу материалы и методы исследования, главу результатов собственных исследований и их обсуждения, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список цитируемой литературы и семь приложений. Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста включая основной текст и 7 приложений. Результаты исследований иллюстрированы 4 таблицами и 21 рисунком. Библиография включает 232 источник, из них 213 – иностранных.

Во введении диссертации приводится общая характеристика работы, где автор обосновывает актуальность проведенного исследования, отражает степень научной разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи исследования, отмечает новизну, теоретическую и практическую значимость работы. Здесь же представлены положения, выносимые на защиту, и отражено личное участие автора в выполнении работы заключающееся в анализе литературных данных проведении исследований, обработке их результатов и анализе полученных данных.

Первая глава диссертации является обзором литературы по изучаемой автором проблеме. В ней даны современные представления о составе

внуклеточного матрикса. Изложены существующие подходы, используемые для удаления клеточных компонентов из биологических тканей и оценки их эффективности. Приведены примеры клинического применения бесклеточных биологических материалов, в том числе из пуповины человека.

Во второй главе «Материалы и методы» Д.В. Товпеко обосновывает и описывает подход, используемый при заборе биологического материала для своих исследований. Описывает этапы изготовления бесклеточных тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека, способы, используемые для оценки эффективности проводимой децеллюляризации. Дает описание методов для оценки компонентного состава, структурных и морфологических характеристик Вартонова студня после децеллюляризации. Приводит подходы, применяемые для оценки биологического действия полученных бесклеточных материалов. Глава завершается обоснованием методов статистической обработки полученных результатов.

Глава «Результаты и обсуждение» включает шесть больших разделов. В первом разделе оценивается качество децеллюляризации Вартонова студня при использовании различных условий децеллюляризации. Во втором разделе исследуется компонентный состав Вартонова студня до и после децеллюляризации. В этих разделах диссертант приводит результаты позволяющие считать, что использование раствора SDS в концентрации 0,01% обеспечивает эффективное удаление клеточного и генетического материала из данной биологической ткани при минимальном содержании остаточного детергента. Приводятся результаты исследований демонстрирующие, что используемый протокол децеллюляризации позволяет достаточно полно сохранить ключевые компоненты внуклеточного матрикса.

В третьем разделе представлены результаты исследования структуры и морфологии тканеинженерных продуктов из Вартонова студня. Используя методы сканирующей электронной микроскопии и вытеснения жидкости, а

также инфракрасной спектроскопии диссертант демонстрирует высокую пористость полученных материалов обусловленную наличием микро- и макропор, а также сохранение тройной спирали в структуре молекул коллагена.

В четвёртом и пятом разделах исследуются различные аспекты биосовместимости полученных продуктов. В экспериментах *in vitro* демонстрируется отсутствие цитотоксичности и гемолитической активности.

Несомненный интерес имеют данные, представленные в шестом разделе. Здесь диссертант приводит результаты исследования (*in vivo*) тканевой реакции на подкожную имплантацию продуктов из Вартонова студня. Продемонстрирована их способность к постепенной резорбции без выраженных воспалительных реакций.

В каждом из разделов этой главы, диссертант сопоставляет результаты собственных исследований с данными литературы.

В «Заключении», Дмитрий Викторович, опираясь на проведенный анализ полученных результатов, отмечает, что децеллюляризованная пуповина человека является перспективным биологическим материалом для производства как лекарственных препаратов, так и медицинских изделий для регенеративной медицины. Полученный материал, в условиях эксперимента, не оказывает цитотоксических эффектов, обладает хорошей гемосовместимостью, а также успешно интегрируется в окружающие ткани при подкожной имплантации. Такая эффективность обеспечивается использованием оригинальной технологии децеллюляризации, позволяющей, с одной стороны, достичь полного удаления клеточного и генетического материала, а также агента децеллюляризации, а с другой, сохранить высокое содержание общего коллагена и широкий спектр гликозаминогликанов.

Завершается диссертация 4-я выводами, в полном объеме отражающими полученные данные, и 3-я практическими рекомендациями, основанными на полученных результатах. Оригинальность проведённых исследований и полученных результатов подтверждается двумя патентами на изобретения.

Автореферат и публикации автора отражают данные представленные в диссертации, которая по тематике и содержанию соответствует специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Автореферат диссертации оформлен в строгом соответствии с требованиями ГОСТ.

При знакомстве с диссертации у меня не возникло принципиальных возражений по сути проведенного исследования, но есть ряд вопросов уточняющего характера:

1. На каких площадках проводился забор исходного материала? Если их несколько, какой выдерживался временной регламент замораживания и размораживания?

2. Почему в предлагаемом протоколе использован однократный цикл «заморозка-размораживание», если в литературном обзоре отмечено повышение эффективности при многократном повторении циклов?

3. В диссертации сказано, что «...после децеллюляризации идентифицировано более 100 различных белков..». Можно ли в перспективе сформировать перечень «необходимых и достаточных» компонентов для стимуляции процессов регенерации на подобии коктейля Яманаки для индуцированной плюрипотентности?

Заключение:

Диссертационная работа Товпеко Дмитрия Викторовича «Разработка и исследование компонентного состава тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека для регенеративной медицины», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная научная задача, направленная на разработку и всестороннюю характеристику тканеинженерных продуктов из Вартонова студня пуповины человека. По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости исследование соответствует критериям и

требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 9, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в настоящей редакции), а ее автор – Товпеко Дмитрий Викторович – заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики
Научно-исследовательского института
кардиологии – филиала Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Томский национальный
исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»
(Томский НИМЦ)

«24» сентябрь 2026г.  Афанасьев Сергей Александрович

Подпись Афанасьева С.А. заверяю:

Ученый секретарь Томского НИМЦ
кандидат биологических наук



 Хитринская Ирина Юрьевна

Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», 634012, г. Томск, ул. Киевская, д. 111а,
тел./ факс (3822) 55-50-57/ 55-83-67, www.cardio-tomsk.ru
E-mail: cardio@cardio-tomsk.ru