

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника
Военно-медицинской академии
по учебной и научной работе
доктор медицинских наук профессор
Б.Н. Котив

«27» 10 20 10 г.

рег. № 4/10/ 970

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Хесуани Юсефа Джоржевича «Моделирование функциональной тканеинженерной конструкции щитовидной железы с использованием технологии 3D-биопринтинга», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки и производства или практической деятельности.

Формирование физиологически функциональных тканеинженерных конструкций (ТИК), которые бы проявляли свои качества как *in vitro*, так и *in vivo*, крайне важно, как для фундаментальной науки, например, для исследования процессов дифференцировки клеток, анализа функций генов на уровне тканей и органов, расширения возможностей «науки без животных» и т.п., так и для медицины, в первую очередь, для тестирования лекарств. Актуальность темы исследования, равно как и связь ее с таким направлением клеточных технологий как тканевая инженерия и регенеративная медицина очевидны, т.к. речь идет о моделировании прообраза искусственного органа, возможно, недалекой альтернативы аллогенных трансплантатов. Автор посвятил свое исследование совершенствованию технологии 3D-биопринтинга – размещению клеток на биосовместимой основе с использованием послойного метода генерации трёхмерных структур биологических тканей и, как следует из материалов работы, успешно справился в рамках поставленных задач, сформулировав положения, отличающиеся научной новизной исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Во-первых, автором, использованием биосовместимых гидрогелей и сфероидов разного состава удалось продемонстрировать условия необходимые и достаточные для использования экструзионного метода 3D-биопринтинга на биопринтере Fabion, что предопределило возможность сформировать функционально активную *in vivo* ТИК щитовидной железы (ЩЖ) на основе сфероидов эмбриональных эксплантов (ЭЭ) ЩЖ и аллантаиса (АЛЛ) мыши.

Во-вторых, диссертантом разработана методика длительного 3D-культивирования жизнеспособных тиреоцитов (ТЦ) и тиреоидных фолликулов (ТФ) человека, а также показана возможность индукции фолликулогенеза из стволовых клеток щитовидной железы. И, наконец, исследователем была разработана методика 3D-культивирования микроорганных культур (МО) ЩЖ, сопровождающегося пролиферацией ТЦ и синтезом внеклеточного матрикса (ВКМ).

Данные положения, основанные на результатах исследований, использующих современное оборудование, приемы и методы, в полной мере нашли отражение в выводах и рекомендациях, сформулированных в диссертации.

Значимость для науки и производства или практической деятельности полученных соискателем результатов.

Учитывая, что технология 3D-биопринтинга развивается, следует признать, что практическая значимость работы достаточно четко сформулирована в научной новизне исследования и охватывает решение принципиальных практических аспектов 3D-биопринтинга. В частности, методологии 3D-биопринтинга, процедуры формирования ТИК использованием технологии экструзионного 3D-биопринтинга, протокола длительного 3D-культивирования на основе лизата тромбоцитов и 3D-культивирования МО на границе раздела сред.

Структура и содержание работы.

Работа, изложенная на 186 страницах, оформлена в традиционном стиле: состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам и методам исследования, результатам собственных исследований, заключения, выводов и списка цитируемой литературы из 198 отечественных и зарубежных источников. Особо значимые результаты иллюстрированы 70 рисунками и 16 таблицами.

Во введении диссертант акцентирует внимание на актуальности темы, научной новизне исследования, результатов, выводов и открытых вопросах,

составивших цель, задачи исследования и формулирует положения, выносимые на защиту.

В обзоре автор описывает историю формирования направления и концентрирует внимание на принципах технологии 3D-биопечати, описании «классических» методов биопринтинга, программного обеспечения, компонентах для 3D-биопечати. Обзор соискатель заканчивает описанием последних достижений в развитии биопринтинга и морфологии щитовидной железы, как объекта для биопринтинга. Данный раздел написан корректно, легко читается (чему способствуют необходимые иллюстрации) несмотря на достаточную новизну технологии 3D-биопринтинга для изготовления биологических конструкций, свидетельствуя об отличном знании автором анализируемой темы и современных отечественных и зарубежных литературных источников.

В главе «Материалы и методы исследования» соискателем представлен весь большой арсенал использованных методов и приемов. В частности, подробно описаны процедуры формирования сфероидов разного клеточного состава, их подготовки для сканирующей электронной микроскопии. Представлены технология оценки механических свойств тканевых сфероидов, их способности к распластыванию и слиянию, а также приемы выделения ЭЭ ЩЖ мыши из эмбрионов мышей и АЛЛ мыши. Доступно показан материал по 3D-биопринтингу ТИК ЩЖ из ЭЭ и АЛЛ ЩЖ в коллагеновом геле с использованием биопринтера Fabion, иммуноферментному анализу ТИК ЩЖ, процедуре инактивации функции ЩЖ, методике оценки *in vivo* функции ТИК ЩЖ, полученной путем 3D-биопринтинга из ЭЭ ЩЖ и АЛЛ мыши, а также не менее интересного протокола выделения и культивирования ТЦ, ТФ, и МО ЩЖ человека. Глава написана подробно, что не вызывает сомнений в непосредственной причастности автора к описанным приемам и методам и в возможности их воспроизведения.

Глава «Результаты собственных исследований» в соответствии с задачами исследования, начинающаяся с поиска оптимального гидрогеля для 3D-биопечати, демонстрирует, что наилучшие результаты при апробации 3D-биопечати тестовых структур могут быть получены использованием гидрогеля на основе коллагена I типа: вследствие слияния материала формируется однородная конституция, причем, цитосовместимая, судя по представленным соискателем результатам оценки жизнеспособности клеток и тканевых сфероидов из них напечатанных.

Далее соискатель от поиска оптимального скаффолда переходит к клеточному компоненту ТИК – изучению свойств сфероидов на основе клеток разных типов. Здесь диссертант отметил неоднозначность изменение объема

сфероидов разных клеточных линий в процессе культивирования – увеличение одних и уменьшение других, как возможные последствия усиления/уменьшения пролиферативного потенциала клеток, что предопределило необходимость исследования жизнеспособности клеток сфероидов в динамике культивирования. При этом, автор отметил зависимость жизнеспособности клеток сфероидов как от типа клеток, так и исходного их числа в сфероиде, приняв 8000 клеток на сфероид в качестве оптимального их числа в исходном состоянии сфероида, хотя можно предположить, что и вид «упаковки» клеток в сфероиде может влиять на их жизнеспособность. Далее при оценке механических свойств сфероидов из клеток разных тканей оказалось, что прочность сфероидов, исходно составляющая 0,2-3,0 кПа может возрастать до 5,4 кПа или не изменяться при созревании. Дальнейший анализ такого необходимого условия формирования органотипичной ТИК после ее формирования путем 3D-биопечати, как распластывание и слияние, показал признаки эффективного слияния сфероидов в сроки до 4-5 суток и миграцию из них клеток, позволив автору принять это время в качестве времени дозревания ТИК после принтинга.

Полученные данные предопределили дальнейшее развитие исследования и, прежде всего, в части получения сфероидов из эмбриональных эксплантов щитовидной железы и аллантаиса мышей. При этом, на первом этапе биопечати конструкта щитовидной железы была отпечатана его коллагеновая подложка с последующим размещением в ее центре ЭЭ и АЛЛ, согласно заданной цифровой модели, с последующим запечатыванием конструкта. Здесь же, в соответствии с полученным фактическим материалом, автору удалось высказать предположение, что срастание АЛЛ с ЭЭ ЩЖ сопровождается процессом васкуляризации напечатанных конструктов ЩЖ и возможностью доказательства их функциональности посредством трансплантации под почечную капсулу мышей с индуцированным гипотиреозом. Фактически диссертанту удалось показать повышение уровня тироксина спустя 5 недель после трансплантации конструкта, а в месте трансплантации наблюдать фолликулярную структуру щитовидной железы с накоплением коллоида. Этим исследованием автор предопределил возможность создания функциональной ткани щитовидной железы человека и в конечном итоге получить прототип конструктов ЩЖ человека на основе МО ЩЖ, подтвердив тем самым достаточность технологии 3D-биопринтинга с использованием биопринтера Fabion компании «3D Биопринтинг Солюшенс».

Автореферат отражает содержание диссертационного исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты и выводы диссертации могут быть использованы: при выполнении научно-исследовательских работ по 3D-биопринтингу объемных моделей паренхиматозных органов и тканей, клеточной терапии и тканевой инженерии в части использования некоторых материалов; в учебной работе, в частности, на кафедре гистологии.

Замечания к работе.

К содержанию и оформлению диссертации замечаний нет.

Заключение

Диссертация Хесуани Юсефа Джоржевича на тему «Моделирование функциональной тканеинженерной конструкции щитовидной железы с использованием технологии 3D-биопринтинга», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение задачи, имеющей существенное значение для создания экспериментальных моделей тканеинженерных конструкций солидных органов с использованием технологии 3D-биопринтинга.

По объему проведенных исследований и научной новизне полученных автором результатов работа соответствует п.16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0094/Р от 31.01.2020 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, протокол заседания № 40 от 26 октября 2020 года.

Начальник научно-исследовательского центра

Доктор медицинских наук, доцент

Нагибович Олег Александрович

Начальник научно-исследовательской лаборатории

(тканевой инженерии) научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра

Доктор медицинских наук, профессор

Александров Виктор Николаевич

ПОДЛИННОСТЬ 5
ПОДПИСИ ЗАВЕРЯЮ

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА КАДРОВ
ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ
АКАДЕМИИ
ПОЛКОВНИК М/С Д. ГУСЕВ