

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**доктора биологических наук Шеваля Евгения Валерьевича,
на диссертационную работу Бикмулиной Полины Юрьевны на тему
«Фабрикация гидрогелевых тканеинженерных конструкций на основе
мезенхимных стромальных клеток с использованием методов 3D биопечати и
фотобиомодуляции в красном и ближнем инфракрасном диапазоне»,
представленную в диссертационный совет ДСУ 208.003.03 при ФГАОУ ВО Первый
МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям
1.1.10. Биомеханика и биоинженерия, 1.5.22. Клеточная биология.**

Актуальность темы исследования

Одним из важных направлений современной биоинженерии и клеточной биологии является разработка искусственных аналогов тканей и органов. Один из подходов в этой области состоит в использовании метода 3D-биопечати. В ходе биопечати клетки подвергаются значительным механическим и физико-химическим нагрузкам, включая давление, воздействие УФ-излучения при фотополимеризации и температурные колебания. Все это может влиять на результат биопечати. Изучение особенностей получаемых материалов, физиологии клеток и разработка методов воздействия на клетки - все эти задачи находятся на передовом крае науки и заслуживают изучения. Таким образом, диссертационная работа Бикмулиной Полины Юрьевны, вне всякого сомнения, является актуальной.

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

Представленная на защиту кандидатская диссертация демонстрирует высокую степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Диссертационное исследование построено логично, написано ясно и четко. Сделанные выводы соответствуют заявленной цели и задачам исследования.

Достоверность полученных результатов и новизна исследования

Достоверность полученных Бикмулиной П.Ю. результатов основана на использовании достаточного количества экспериментов для подтверждения поставленных задач, а также воспроизведением результатов при применении различных методов анализа.

Новизна работы заключается в использовании фотобиомодуляции в разных режимах при 3D-биопечати тканеинженерных конструкций на основе биосовместимого

гидрогеля и клеточных сфероидов из МСК. Данный подход может обеспечить выживаемость необходимого количества клеток при печати объемных фотосшиваемых конструкций. Также в ходе диссертационного исследования разработаны методики определения жизнеспособности клеток и сфероидов в составе трехмерных гидрогелевых структур. На основе полученных данных были сформулированы принципы стандартизации конструкций, получаемых методом 3D-биопечати, в том числе при использовании фотобиомодуляции.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Представленная работа вносит существенный вклад в развитие технологий 3D-биопечати, предлагая новый подход к созданию жизнеспособных тканеинженерных конструкций с использованием фотобиомодуляции. На основе полученных данных предложен протокол комбинированного применения 3D-биопечати и фотобиомодуляции, что открывает новые возможности для разработки функциональных тканевых эквивалентов.

Результаты кандидатской диссертации, полученные автором, используются в учебном процессе Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Практическая значимость работы подтверждается тремя зарегистрированными патентами на изобретение.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация Бикмулиной П.Ю. соответствует паспортам научных специальностей 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия, а именно: пункту 10, 11, 18, и 1.5.22. Клеточная биология, а именно: пункту 11; 12; 14; 18.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационного исследования Бикмулиной Полины Юрьевны освещены в 25 печатных работах, включающих 10 оригинальных научных статей и 3 патента.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертация состоит из «Введения», «Обзора литературы», Экспериментальной части (разделы «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение»), «Заключения», «Выводов», «Списка сокращений и условных обозначений» и «Списка литературы». Материал изложен на 152 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и 54 рисунка. Список литературы включает 336 источников.

Введение содержит обоснование актуальности исследования, в котором обозначены цель и поставленные задачи работы. В данном разделе сформулированы научная новизна и практическая значимость проведенного исследования, описаны использованные методологические подходы. Автор приводит основные положения, выносимые на защиту, подтверждает апробацию и достоверность полученных результатов. Также в данном разделе представлена информация об объеме и структуре диссертационной работы.

В первой главе «Обзор литературы» представлен анализ современных достижений в области биопечати и тканевой инженерии. Следует особо отметить, что структура Обзора повторяет структуру экспериментальной части исследования, т.е. содержит материал, который необходим для обоснования проведенного исследования и трактовки полученных результатов.

Во второй главе «Материалы и методы» достаточно детально описаны экспериментальные подходы, использованные в работе.

В главах раздела Результаты автором описаны полученные результаты, подкрепленные соответствующим фактическим материалом, посвященным решению отдельных задач работы в соответствии с целью исследования.

В главе 3.1 описан процесс получения и характеристики мезенхимных стромальных клеток и клеточных сфероидов.

Глава 3.2 включает результаты по разработке состава гидрогеля для 3D биопечати. Приведено сравнение двух вариантов гидрогеля по их физико-химическим и биологическим свойствам. Описана процедура подбора оптимальных условий для полимеризации гидрогеля.

Глава 3.3 посвящена созданию протокола трехмерной экструзионной биопечати, обеспечивающего высокую точность и воспроизводимость печати объемных конструкций с использованием разработанного гидрогеля.

Глава 3.4 показывает основные результаты диссертации по биоинженерии конструкций на основе сфероидов из МСК. Приведено сравнение жизнеспособности, метаболической активности, пролиферации, скорости миграции клеток и дифференцировки в сфероидах.

В главе 3.5 представлены данные по подбору двух режимов фотобиомодуляции и определению основных мишеней в клетке (последняя группа данных мне кажется предварительной, требующей дальнейшего изучения).

Глава 3.6 демонстрирует результаты комбинации разработанных на предыдущих этапах подходов к трехмерной биопечати и фотобиомодуляцию клеточных сфероидов из МСК.

В четвертой главе приведено обсуждение полученных результатов, сформулированы основные выводы каждой главы экспериментальных данных.

Диссертационная работа Бикмулиной П.Ю. завершается заключением, раскрывающем значимость полученных результатов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает логику и последовательность решения задач исследования, раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации

У меня нет никаких принципиальных замечаний или возражений по диссертации Бикмулиной П.Ю., но необходимо отметить, что в ходе чтения было выявлено достаточно большое количество мелких недостатков, преимущественно в оформлении и представлении результатов работы.

1. В тексте диссертации и автореферате неправильно указано число опубликованных по теме диссертации статей (указано 19, на самом деле - 10).

2. Текст диссертации содержит большое число опечаток. Например, в одном из мест диссертации речь идет о “миграции пролиферации клеток” (стр. 86). По контексту понятно, что тут пропущен союз “и”. Иногда используются неудачные формулировки (или, возможно, лабораторные жаргонизмы). Например: “Кроме того, клетки в сфероиде образуют больше межклеточных контактов, приобретают более естественную морфологию и имеют более полную экспрессию генов”. Ни *естественная морфология*, ни *полная экспрессия* не являются понятными для всех терминами. В целом, хотелось бы более аккуратного отношения к написанию текстов на русском языке.

3. При описании результатов очень автор использует динамические термины, иногда там, где их использование необоснованно статистическими данными. Например, автор пишет, что “При этом метаболическая активность, хотя и имела тенденцию к снижению при введении гидрогеля, не отличалась значимо от контроля (рисунок 29Г)”. В этой ситуации либо надо признать, что отличий нет, либо повысить точность измерений. Еще в одном случае автор описал положительное влияние (тоже

“тенденция”) геля на пролиферацию клеток, хотя на иллюстрирующей картинке 32Б такой тенденции нет. На самом деле, в этом случае есть достоверное снижение в контроле, и нет снижения при использовании гидрогеля. Т.е. ошибки нет, но написано несколько небрежно.

Также очень нечетко описываются результаты по дифференцировке сфероидов (стр. 91, рис. 36). Результаты описаны следующим образом: “Во всех случаях эффективность дифференцировки сфероидов из контрольной группы уступала эффективности гидрогелевых культур”. Но в случае адипогенной дифференцировки нет никаких различий между какими-либо группами (или они не указаны).

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования и не влияют на общую оценку работы. Также хотелось бы задать несколько вопросов, касающихся работы:

1. Каков был вклад автора в постановку экспериментов по изучению фибриновых частиц методом малоуглового рентгеновского рассеяния (MPP, SAXS)?
2. Не кажется ли, что облучение ультрафиолетом в ходе печати может повреждать клетки? И не будет ли последующая фотобиомодуляция способствовать выживанию поврежденных клеток?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Бикмулиной Полины Юрьевны на тему: «Фабрикация гидрогелевых тканеинженерных конструкций на основе мезенхимных стромальных клеток с использованием методов 3D биопечати и фотобиомодуляции в красном и ближнем инфракрасном диапазоне» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение различных научных задач, включая получение тканеинженерных конструкций с высокой жизнеспособностью клеточных сфероидов, разработка стандартизированной методики определения клеточной жизнеспособности в напечатанных конструкциях, а также создание комбинированного протокола биопечати и неинвазивного метода стимуляции клеточного метаболизма - фотобиомодуляции, имеющих существенное значение для тканевой инженерии, что соответствует требованиям 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 № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными:

приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Бикмулина Полина Юрьевна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия, 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (03.03.04. Клеточная биология, цитология, гистология),
заведующий лабораторией ультраструктуры клеточного ядра
Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени
А.Н.Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»

Э.Ш. Шеваль Евгений Валерьевич

01.09.2025

Подпись Шеваля Евгения Валерьевича заверяю

И.о. директора

Научно-исследовательского института

физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ,

член-корреспондент РАН



П.В. Сергиев Петр Владимирович

«01» сентября 2025 г.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени
А.Н.Белозерского, Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова»

Адрес: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40

Телефон: +7 (495) 939-53-59

e-mail: fxb@genebee.msu.su