

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Бонарцева Антона Павловича на диссертационную работу Ермаковой Полины Сергеевны на тему «Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с островками Лангерганса для компенсации инсулин-дефицитных состояний», 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

Сахарный диабет 1 типа остается сложной медико-социальной проблемой современного здравоохранения. Несмотря на значительный прогресс в разработке инсулиновых препаратов и систем непрерывного мониторинга глюкозы, достижение полноценного метаболического контроля без риска гипогликемических состояний и долговременного повышенного уровня концентрации глюкозы в крови выше безопасного уровня (по уровню гликированного гемоглобина (HbA1c) – более 6,5%), что влечет развитие осложнений диабета (нефропатии, ретинопатии, полинейропатии, атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и других), остается недостижимой целью. Трансплантация островков Лангерганса рассматривается как физиологически обоснованная альтернатива, однако ее широкое внедрение сдерживается необходимостью пожизненной иммуносупрессии и высокой гибелью трансплантата.

В этом контексте диссертационная работа П.С. Ермаковой, направленная на разработку новых иммуноизолирующих микрокапсул на основе нового катионного полимера поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмония хлорида (ПМЭТАХ) с высокой биосовместимостью и избирательной проницаемостью, представляется особенно перспективной. Выбор ПМЭТАХ в качестве ключевого компонента покрытия и предложенная автором структура трехслойной системы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» открывает перспективы для преодоления классических проблем микроинкапсулирования — нестабильности, перикапсулярного фиброза и ограниченной функциональной активности. Актуальность работы не вызывает сомнений и обусловлена как фундаментальными вопросами взаимодействия клеток с полимерными материалами, так и прикладными задачами создания клинически применимых клеточных продуктов.

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

Представленное исследование характеризуется продуманной и стройной методологической структурой. Автор последовательно проходит путь от физико-химической характеристики материала к оценке его биологической безопасности *in vitro* и, наконец, к функциональным испытаниям на адекватной *in vivo* модели. В качестве примера элемента этой структуры следует отметить выбор наиболее перспективной микрокапсулы, который подкреплён данными таблицы 3, из которых ясно следует, что выбор полностью обоснован. Такая логика построения работы обеспечивает высокую степень обоснованности не только в данном примере, но и каждого сформулированного положения. Выводы диссертации логически вытекают из полученных эмпирических данных и не содержат положений, не подкреплённых экспериментально.

Достоверность полученных результатов и новизна исследования

Достоверность данных обеспечена репрезентативными выборками, использованием современных методик и корректной статистической обработкой. Воспроизводимость ключевых эффектов в независимых сериях экспериментов не вызывает сомнений.

Основной новизной работы является впервые обоснованное применение полимера ПМЭТАХ в качестве основного поликатионного компонента микрокапсулы для эндокринных клеток. Ранее этот материал демонстрировал свои преимущества в других областях биомедицины, однако его адаптация для инкапсуляции островков Лангерганса является оригинальной авторской идеей. Также впервые:

- установлена оптимальная концентрация ПМЭТАХ (0,4%), при которой достигается баланс между селективной проницаемостью и механической стабильностью;
- доказано, что инкапсуляция не индуцирует цитотоксических эффектов и сохраняет функциональный профиль клеток;
- продемонстрирована возможность длительного (до 3 месяцев) функционирования ксеногенных островков без применения иммуносупрессии, что является важным достижением в доклинических исследованиях.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы заключается в расширении фундаментальных представлений о биосовместимости катионных полимеров нового поколения и их взаимодействии с эндокринными клетками. Автором детально охарактеризованы физико-механические параметры микрокапсул в зависимости от концентрации полимера, что создаёт методологическую основу для дальнейших исследований в области материаловедения.

С практической точки зрения, разработанный протокол получения микрокапсул отличается воспроизводимостью и масштабируемостью. Полученный патент Российской Федерации подтверждает промышленную применимость разработки. Внедрение результатов в учебный процесс говорит о востребованности полученных знаний в подготовке кадров для регенеративной медицины. В долгосрочной перспективе предложенная технология может стать платформой для создания клеточных трансплантатов для лечения сахарного диабета 1 типа.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа полностью соответствует паспортам заявленных научных специальностей. По специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия работа отвечает пунктам 10, 11, 14, 18 паспорта, поскольку представляет собой законченное исследование в области создания заменителей органов и тканей с применением инженерных подходов. По специальности 1.5.22. Клеточная биология представленные данные соотносятся с пунктами 11, 12, 14, 19 паспорта, так как работа направлена на изучение клеточных культур в трехмерных системах и их адаптацию к терапевтическому применению.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные результаты диссертации отражены в 27 публикациях, из которых 12 являются полноформатными статьями в журналах: 6 в российских журналах 1-ого уровня Белого списка и 6 – в зарубежных журналах, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus (в т.ч. 5 статей в изданиях 1-ого квартиля). Получен 1 патент на изобретение. Следует отметить также большое число устных докладов на всероссийских и международных конференциях и научных школах, на которых были апробированы материалы работы – 24, включая такие значимые научные мероприятия в области биоинженерии, клеточной биологии и регенеративной медицины, как конгресс TERMIS и Национальный конгресс по регенеративной медицине, а также полученные на конференциях и молодежных научных школах дипломы I степени. Такой объем публикационной активности и уровень апробации свидетельствуют о высокой степени признания работы профессиональным сообществом.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 144 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы (217 источников, расположенных в списке в порядке упоминания в тексте, из которых 112, т.е. более 50%, опубликованы в последние 5 лет; из всех работ 11 свежих работ в российских журналах и 206 – в зарубежных, среди которых значительная часть – российских ученых,

что для этой тематики вполне объяснимо). Работа содержит 22 рисунка и 3 таблицы, приложений не имеет.

Во введении убедительно обоснована актуальность, четко сформулированы цель и задачи, научная новизна и практическая значимость исследования.

Обзор литературы (Глава 1) написан хорошим языком, демонстрирует глубокое понимание автором проблемы. В нем детально разобраны патогенез СД1 (в т.ч. указаны такие часто незаслуженно редко упоминаемые в медицинской литературе причины развития диабета I типа, как панкреатогенный диабет, а также сведения о том, что при диабете I типа повышен риск развития других аутоиммунных заболеваний), причины ограничения существующих методов терапии (хотя все же следует отдать должное поистине впечатляющему развитию современной инсулинотерапии и мониторинга уровня глюкозы), история и современное состояние трансплантации ОЛ, а также подробно описаны различные типы капсул и их клинические испытания (информация представлена в виде 2-х очень информативных таблиц, что сильно улучшает восприятие информации). Однако, иллюстраций в этом разделе нет. Особого внимания заслуживает логичное обоснование выбора ПМЭТАХ в качестве перспективного полимера для инкапсуляции.

В разделе «Материалы и методы» (Глава 2) представлены адекватные и хорошо описанные методики, включая авторские модификации протоколов выделения ОЛ и оценки стабильности микрокапсул.

Глава «Результаты» (Глава 3) изложена последовательно и логично. Автором проведена масштабная работа по выбору оптимальной концентрации ПМЭТАХ на основе комплексного анализа проницаемости и стабильности (осмотической, термической, культуральной). Полученные *in vitro* данные о сохранении жизнеспособности и функции ОЛ убедительно подтверждают биосовместимость разработанной системы. Наиболее важным разделом является часть работы *in vivo*, где доказана способность инкапсулированных ОЛ снижать гипергликемию у крыс с диабетом и продлевать срок функционирования ксеногенных клеток до 3 месяцев, в то время как свободные ОЛ погибали в течение недели. Гистологический анализ подтвердил низкую иммуногенность и хорошую биосовместимость микрокапсул.

В разделе «Обсуждение» (Глава 4) автор дает глубокую интерпретацию полученных данных, проводит корректное сравнение с мировыми аналогами и обосновывает преимущества своей разработки, а также определяет направления для дальнейших исследований.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает содержание диссертации и раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Ермаковой Полины Сергеевны представляет собой объемное исследование, посвященное разработке и комплексной оценке новой системы микроинкапсуляции островков Лангерганса на основе полимера ПМЭТАХ для компенсации инсулин-дефицитных состояний. Хочется отметить высокий методический уровень исследования и уровень доказательности результатов, большое внимание и тщательное отношение к выбору экспериментальных моделей и методов исследования, большой объем исследований, в т.ч. трудоемких и длительных исследований на экспериментальной модели диабета на крысах, а также логику и последовательность в дизайне экспериментов и изложении результатов. Среди других достоинств данной работы необходимо отметить аккуратность в анализе и интерпретации данных. Отдельно необходимо отметить всестороннюю физико-химическую характеристику разработанных микрокапсул, включающую оценку селективной проницаемости, осмотической и термической стабильности, устойчивости к ионному обмену и ультраструктурный анализ, что позволило не только эмпирически подобрать оптимальную концентрацию ПМЭТАХ (0,4%), но и сформулировать четкие критерии оценки эффективности иммуноизолирующих систем, а также определить практическую направленность и прикладную значимость полученных результатов.

Однако работа не лишена недостатков:

- Встречаются опечатки, например на стр. 21: во фразе «...такая система является выгодной в долгосрочной перспективе» должно быть «долгосрочной»; на стр. 36 «поли-Л-орнитином» вместо «поли-L-орнитином», на стр. 68-69 непонятно, что значит « $p = 0,0000$ », вероятно, это тоже опечатка.

- Имеются неудачные формулировки, например, на стр. 47 «под воздействием стрессоров», лучше сказать «под воздействием стрессовых факторов»; на стр. 45, пункт 2.1: «Поверх нее наносился слой...», стилистически лучше: «Поверх него наносился...» (так как речь идет об альгинатной основе).

При общей высокой оценке работы, к ней можно высказать ряд вопросов и замечаний дискуссионного характера:

- Бактерии рода *Azotobacter*, синтезирующие альгинат, используют его для построения капсулы вокруг клеток. Помимо защитной функция этой капсулы – защита от кислорода фермента нитрогеназы, осуществляющего фиксацию атмосферного азота. В связи с этим, не препятствует ли альгинатный гидрогель снабжению ОЛ кислородом?

- В работе для сшивания полимерных цепей альгината используется барий (Ba^{2+}). В обзоре литературы (стр. 34-35) указано, что хотя барий и обеспечивает наибольшую механическую стабильность, его высвобождение может вызывать токсические эффекты. Проводилась ли оценка цитотоксичности свободного Ba^{2+} для ОЛ и как можно обосновать безопасность его использования в долгосрочной перспективе?

- При стандартной терапии диабета 1 типа применяется также и препараты-пролонги инсулина, например, инсулин гларгин, который вводят подкожно 1 раз в сутки утром или вечером обычно в дозе от 20 до 35 МЕ. Почему в исследовании его не применяли?

- В эксперименте *in vivo* вы использовали 2000 ОЛ на животное и в обсуждении указываете, что это может быть недостаточно для полной нормализации гликемии. Как вы пришли к этой дозировке и планировали ли использование более высоких концентраций?

Указанные замечания носят дискуссионный характер и не влияют на общую высокую положительную оценку диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Ермаковой Полины Сергеевны на тему «Микрокапсулы "альгинат-ПМЭТАХ-альгинат" с островками Лангерганса для компенсации инсулин-дефицитных состояний» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по разработке и экспериментальному обоснованию новой системы микроинкапсуляции островков Лангерганса с использованием полимера ПМЭТАХ, имеющей существенное значение для биоинженерии и клеточной биологии.

По актуальности, научной новизне, практической значимости, объему и уровню проведенных исследований диссертация полностью 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 Ермакова Полина Сергеевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия, 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (1.5.6. Биотехнология)
доцент кафедры биоинженерии биологического факультета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»



Бонарцев Антон Павлович

Подпись Бонарцева Антона Павловича заверяю

Декан биологического факультета Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова, академик



Кирпичников Михаил Петрович

«19» августа 2026 г.

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Адрес: 119234, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 12
Телефон: +7 (495) 939-27-76
e-mail: info.bio@org.msu.ru

