

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

профессора доктора медицинских наук Макаровой Ольги Васильевны 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 широко распространен среди населения во всем мире и количество пациентов, страдающих этим заболеванием, неуклонно возрастает, так, по прогнозам к 2040 году число пациентов с сахарным диабетом 1 типа в мире составит 14,7 млн человек. Вследствие опосредованной аутоантителами гибели инсулинпродуцирующих клеток островков Лангерганса у пациентов с сахарным диабетом 1 типа развивается инсулиндефицитное состояние, что приводит к тяжелым метаболическим нарушениям и осложнениям заболевания. Коррекция дефицита инсулина при сахарном диабете основана на сочетании диетотерапии с пожизненным ежедневным введением экзогенного инсулина, что является основным методом предотвращения гипергликемии. Несмотря на многолетний успешный опыт использования автоматизированных систем доставки инсулина, эта терапия не позволяет в полной мере воспроизвести физиологическую регуляцию уровня гликемии и не предотвращает развития осложнений заболевания. В связи с этим разрабатываются способы клеточной терапии сахарного диабета, основанные на трансплантации островков Лангерганса в микрокапсулах, которые должны быть полупроницаемыми, биосовместимыми и обеспечивать длительное сохранение жизнеспособности и функциональной активности трансплантируемых клеток. В раннем посттрансплантационном периоде наблюдается гибель клеток островков Лангерганса, что определяет необходимость проведения иммуносупрессивной терапии, вызывающей развитие тяжелых иммунодефицитных состояний. В этой связи разработка биосовместимых систем микроинкапсуляции трансплантируемых клеток, способных обеспечить защиту трансплантата от реакции иммунной системы, несомненно является актуальной задачей регенеративной медицины, клеточной биологии и биоинженерии.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Диссертационная работа Ермаковой П.С. посвящена созданию и всестороннему изучению физико-механических и биологических свойств новой трехслойной микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат». Автором впервые предложено использование катионного полиэлектролита ПМЭТАХ (поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмонийхлорида), обеспечивающего высокую проницаемость и изоляцию трансплантированных островков Лангерганса от иммунокомпетентных клеток, и обладающего высокой биосовместимостью, характеризующейся слабо выраженными реакциями фиброза и воспаления. Наряду с исследованием структуры, физико-механических и биологических свойств новой трехслойной микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», проведена оценка возможности их применения для продления срока функционирования трансплантированных островков Лангерганса.

Разработанный автором биоинженерный трансплантат на основе микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с островками Лангерганса демонстрирует новый подход к клеточной терапии сахарного диабета. Ключевой новизной разработанных микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» является применение нового полимерного покрытия для инкапсуляции островков Лангерганса, определена оптимальная концентрация ПМЭТАХ для формирования трехслойной, стабильной и полупроницаемой микрокапсулы. Охарактеризована структура и физико-механические свойства микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат».

Впервые доказано, что инкапсуляция в биосовместимые полупроницаемые микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» не оказывает цитотоксического действия на клетки островков Лангерганса и позволяет сохранить их функциональную активность как *in vitro*, так и *in vivo* на протяжении длительного времени (до 3 месяцев). Такая капсула пропускает кислород, глюкозу, инсулин и питательные вещества, но препятствует контакту с иммунными клетками и антителами. Благодаря этому удаётся замедлить или предотвратить отторжение трансплантата.

На экспериментальной модели сахарного диабета I типа установлено, что микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», содержащие островки Лангерганса, способны длительно, в течение 90 сут., компенсировать дефицит инсулина, продлевая срок функционирования клеток и снижая уровень глюкозы в крови у крыс. При этом на тканевом уровне в жировой ткани, но не брюшине, выявлена относительно высокая биосовместимость микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», содержащих островки Лангерганса. При гистологическом исследовании вокруг трансплантированных в жировую ткань микрокапсул фиброз и воспалительная реакция были слабо выражены.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о биосовместимости и функциональных свойствах полимера ПМЭТАХ, а также о возможностях его применения в тканевой инженерии. Полученные данные о взаимосвязи структуры, физико-механических свойств и биологической активности трехслойных микрокапсул вносят существенный вклад в фундаментальные аспекты разработки материалов для клеточной трансплантации.

Практическая значимость работы подтверждается созданием прототипа биоинженерного трансплантата, обладающего высоким терапевтическим потенциалом. Разработанный протокол инкапсуляции отличается технологичностью и воспроизводимостью, что является важным для его потенциального масштабирования. Автором получен патент РФ на способ приготовления микрокапсул, а результаты исследования внедрены в учебный процесс, что свидетельствует об их практической востребованности. Разработанная технология может стать основой для создания клинически применимой системы лечения сахарного диабета I типа. Проведено комплексное исследование стабильности (осмотической, термической и в условиях длительного культивирования) и цитотоксичности новой трехслойной системы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», что закладывает основу для её потенциального будущего применения в клинике для клеточной терапии заболеваний, связанных с дефицитом инсулина.

Степень разработанности темы исследования

Трансплантация клеток островков Лангерганса является перспективным способом коррекции инсулиндефицитного состояния, который обеспечивает длительный стабильный контроль уровня глюкозы и коррекцию нарушений метаболизма. Основными препятствиями в использовании этого метода являются гибель клеток в раннем посттрансплантационном периоде, необходимость проведения иммуносупрессивной терапии с развитием тяжелых иммунодефицитных состояний. В этой связи разработка биосовместимых систем микроинкапсуляции трансплантируемых клеток, способных обеспечить защиту трансплантата от реакции иммунной системы, несомненно является важной задачей регенеративной медицины и биоинженерии.

Диссертационная работа Ермаковой П.С. посвящена решению этой задачи путем создания и всестороннего изучения новой трехслойной микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат». Автором впервые предложено использование катионного полимера ПМЭТАХ, обладающего высокой биосовместимостью и антифибротическими свойствами, в качестве ключевого компонента иммуноизолирующего покрытия. Это делает исследование несомненно актуальным как в фундаментальном плане, так и с точки зрения создания клинически применимой клеточной терапии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование характеризуется высоким методологическим уровнем и обоснованностью научных положений. Автором корректно определены цель и задачи, которые решены в ходе выполнения работы. Представленные положения, выносимые на защиту, и выводы работы полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Они базируются на репрезентативном объеме экспериментальных данных, полученных с использованием широкого спектра современных методов - определение проницаемости, механической и термической стабильности микрокапсул, их ультраструктуры и биологической совместимости на клеточном и тканевом уровнях. Структура исследования построена по принципу - от фундаментальной физико-химической характеристики материала к оценке его биологических свойств *in vitro* и, наконец, к проверке эффективности *in vivo* на адекватной экспериментальной модели сахарного диабета, что обеспечивает высокую степень достоверности и воспроизводимости полученных результатов.

Достоверность полученных результатов и новизна исследования

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и обеспечивается репрезентативным объемом выборок, использованием современных методов, корректной статистической обработкой данных, а также воспроизводимостью результатов в повторных экспериментах.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа имеет логичный, структурированный и заверченный характер, отличается полнотой представленного материала. Она изложена на 144 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трех глав результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и библиографического списка, включающего 217 источников. Работа хорошо иллюстрирована 22 рисунками и 3 таблицами. Рисунки информативные, хорошего качества.

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

Глава 1 посвящена обзору литературы. Содержит глубокий и систематизированный анализ современного состояния проблемы. Автором детально рассмотрены патогенез сахарного диабета 1 типа, ограничения традиционной инсулинотерапии, история и современные проблемы трансплантации эндокринных клеток поджелудочной железы, а также дан детальный анализ различных подходов к инкапсуляции клеток и приведены результаты их применения в клинике. Кроме того, автор в рамках литературного обзора обосновывает выбор ПМЭТАХ в качестве перспективного материала для создания микрокапсул.

В разделе «Материалы и методы» (Глава 2) представлен широкий спектр современных использованных в работе экспериментальных подходов, включая микрофлюидный синтез капсул, оценку их физико-механических свойств, культивирование клеток, иммуноферментный анализ, гистологические и иммуногистохимические методы, а также моделирование сахарного диабета 1 типа на лабораторных животных. Все использованные методики описаны детально и соответствуют современным требованиям.

Таким образом, биоинженерный трансплантат, совмещающий островки Лангерганса и микрокапсулы, созданные на основе простой комбинации альгината и ПМЭТАХ, уникален по двум ключевым аспектам. Во-первых, полимер ПМЭТАХ ранее не использовался для инкапсуляции островков Лангерганса. Во-вторых, в отличие от предыдущих методов, где ПМЭТАХ сочетали с сополимерами, был использован ПМЭТАХ без сополимеров, что позволило создать более простую и эффективную микрокапсулу. Высокая биосовместимость и стабильность микрокапсул, позволяет увеличить сроки выживания и функционирования клеток трансплантата.

Глава 3 «Результаты» является центральной частью работы, которая изложена логично и последовательно. Автором проведен комплексный анализ проницаемости и стабильности капсул с разной концентрацией ПМЭТАХ, что позволило обоснованно выбрать оптимальный вариант (0,4%) для дальнейших исследований. *In vitro* доказано, что инкапсуляция не снижает жизнеспособность (более 90%) и функциональную активность клеток островков Лангерганса. Ключевым результатом является подтверждение способности инкапсулированных ксеногенных островков Лангерганса длительно (до 3 месяцев) снижать гипергликемию у крыс с индуцированным стретозотоцином сахарным диабетом, в то время как неинкапсулированные клетки погибали в течение недели. Гистологический анализ подтвердил высокую биосовместимость системы и слабо выраженную фибротическую и воспалительную реакцию.

В главе 4 «Обсуждение» автор проводит глубокий анализ полученных данных, сопоставляет их с представленными в литературе, дает физико-химическую и биологическую интерпретацию наблюдаемых эффектов и определяет перспективные направления дальнейших исследований. Заключение и выводы работы обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация Ермаковой П.С. соответствует паспортам научных специальностей 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия (пункты: 10, 11, 14, 18) и 1.5.22. Клеточная биология (пункты: 11, 12, 14, 19).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные результаты диссертации в полном объеме отражены в печати. По теме исследования опубликовано 27 работ, из них 7 статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, что свидетельствует о широкой апробации и признании результатов научным сообществом. Результаты работы были представлены на многочисленных международных и всероссийских конференциях и отмечены наградами.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата в полном объеме соответствует положениям и выводам диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К безусловным достоинствам работы можно отнести комплексность исследования. Автором выполнен полный цикл разработки биоинженерного трансплантата: от материаловедения и физико-механической характеристики до доклинической оценки эффективности на адекватной биологической модели. Новизна и практическая направленность заключаются в том, что разработана принципиально новая система трансплантации островков Лангерганса, которая по ряду ключевых параметров, таких как стабильность и биосовместимость, превосходит аналоги, представленные в литературе.

Однако работа не лишена недостатков. В ряде случаев встречаются неудачные формулировки, в частности, на стр. 6 «...обрастание имплантата.» – термин слишком разговорный. В научной литературе предпочтительнее использовать термин «перикапсулярный фиброз» или «формирование фиброзной капсулы вокруг имплантата». Стр. 42: «...формирует слой «смазки» со сверхнизким коэффициентом трения.» – использование кавычек вокруг слова «смазки» избыточно; лучше использовать нейтральное выражение: «...формирует гидратированный слой, обеспечивающий сверхнизкий коэффициент трения».

При общей высокой оценке работы, к ней возникли вопросы дискуссионного характера:

1. Каков предполагаемый механизм биodeградации микрокапсул *in vivo* — связанный с фагоцитарной активностью макрофагов, или физико-химический, обусловленный ионным обменом?

2. Для оценки жизнеспособности клеток трансплантированных островков Лангерганса использована реакция с дитизоном, насколько адекватен этот метод?

Вместе с тем, указанные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не умаляют значимости диссертационного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Ермаковой Полины Сергеевны на тему «Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с островками Лангерганса для компенсации инсулин-дефицитных состояний» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, заключающейся в создании биосовместимой и эффективной системы для клеточной терапии сахарного диабета 1 типа, имеющей существенное значение для биоинженерии и клеточной биологии, 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., приказом №1085/Р от 10 июля 2025 г.), 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:

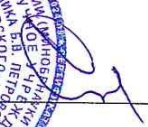
Профессор, доктор медицинских наук (Патологическая анатомия 14.00.15),
главный научный сотрудник,
заведующий лабораторией иммуноморфологии воспаления
Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика
Б.В. Петровского»

 Макарова Ольга Васильевна

Подпись Макаровой Ольги Васильевны заверяю
Ученый секретарь, д.м.н.

Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика
Б.В. Петровского»



 Михайлова Анна Андреевна

«20» августа 2026 г.

Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика
Б.В. Петровского»

Адрес: 119991, г. Москва, ГСП-1, Абрикосовский переулок, д. 2.

Телефон: +7 (495) 151-18-06

e-mail: info@med.ru, сайт: <https://med.ru/>