

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Манухова Ильи Владимировича на диссертацию Агаповой Ольги Игоревны «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.14 - трансплантология и искусственные органы

Актуальность темы исследования

Целью диссертационной работы Ольги Игоревны Агаповой является разработка и использование современных методов микро- и наномасштабных исследований для анализа трехмерной структуры биологических объектов и материалов.

В свете значительных успехов в области регенеративной медицины и тканевой инженерии, особенно актуальными становятся технологии, позволяющие детально изучать микроструктуру тканей. Методы флуоресцентной оптической и зондовой нанотомографии, разработанные и обоснованные в диссертации, позволяют проводить анализ на новом уровне, обеспечивая высокое разрешение и точность. Кроме того, исследования, касающиеся взаимного распределения наночастиц и клеточных компонентов, могут способствовать разработке новых подходов в диагностике и терапии ряда заболеваний.

Таким образом, работа Агаповой О.И. имеет высокую актуальность, так как направлена на решение задач, которые имеют прямое отношение к современным тенденциям в области биомедицины и биоинженерии.

Научная новизна исследования

Особое внимание в диссертационной работе уделено экспериментальному аппарату, который сочетает в себе функции флуоресцентной микроскопии и ультрамикротомии. Это новшество открывает новые возможности для анализа и визуализации структуры биологических образцов с разрешением до 120 нм, что ранее было недоступно.

Кроме того, работа включает результаты, связанные с исследованием трехмерной структуры астроцитов и их отростков, что может иметь важное значение для понимания нейробиологических процессов.

Одним из значимых аспектов исследования является использование созданных на основе фиброина шелка и микрочастиц внеклеточного матрикса печени человека скаффолдов для разработки тканеинженерных конструкций. Полученные результаты демонстрируют высокий регенеративный потенциал этих материалов.

Разработанные методы контроля взаимного распределения магнитных наночастиц и полупроводниковых нанокристаллов в полиэлектrolитных микрокапсулах также демонстрируют высокую научную новизну.

Таким образом, научная новизна диссертации состоит не только в создании и обосновании новых методов и технологий, но и в их успешном применении для решения актуальных задач в области медицины и биоинженерии.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Научные результаты, полученные в диссертационной работе Ольги Игоревны Агаповой, имеют важную научную и практическую значимость в областях клеточной биологии, наномедицинских технологий и регенеративной медицины. Разработанные методы флуоресцентной оптической нанотомографии *in situ* предоставляют новые инструменты для анализа трехмерной структуры биологических объектов с высоким пространственным разрешением, что может существенно расширить

возможности молекулярной визуализации и исследования клеточных взаимодействий.

Создание пористых биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка демонстрирует перспективность этих материалов в контексте тканевой инженерии. Их физико-химические свойства, включая биосовместимость и управляемую скорость деградации, открывают новые возможности для разработки эффективных конструкций, способствующих регенерации тканей. Применение методов корреляционной сканирующей флуоресцентно-зондовой нанотомографии для изучения внутриклеточного распределения лекарственных препаратов представляет собой инновационный подход к оценке их терапевтической эффективности. Это позволяет глубже понять механизмы действия препаратов на клеточном уровне и, в конечном счете, способствует разработке более направленных и безопасных терапевтических стратегий.

Таким образом, результаты диссертационной работы обладают высоким научным и практическим потенциалом, что делает их актуальными для дальнейших исследований и внедрения в клиническую практику.

Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации

Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации подтверждаются комплексным подходом к исследованию, использованием современных методологических инструментов и строгим соблюдением научных стандартов. Работа основана на тщательно проведенных экспериментах.

Полученные результаты были сопоставлены с существующими данными в области клеточной биологии и регенеративной медицины. Методы, примененные в работе обеспечивают высокую степень точности при

исследовании внутриклеточного распределения лекарственных препаратов, что дополняет результаты других исследований и способствует более полному пониманию их механизмов действия. Научные выводы подкреплены статистическим анализом, что добавляет достоверности полученным результатам.

Таким образом, диссертация Ольги Игоревны Агаповой демонстрирует высокую обоснованность и достоверность своих основных положений, результатов и выводов, что делает ее вклад в науку значимым и надежным. Это также подтверждается количеством и высоким уровнем научных публикаций и патентов, опубликованных диссертантом по результатам диссертационного исследования.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, замечания по оформлению

Работа включает введение, обзор литературы, описание экспериментальных методов, пять глав, содержащих результаты собственных исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Каждый раздел проработан тщательно и содержит актуальные данные.

Введение акцентирует внимание на актуальности исследования и подчеркивает важность разработки новых методов для анализа трехмерной структуры биологических объектов. Цели и задачи четко определены, что позволяет задать необходимый вектор для всей работы.

Глава 1 представляет собой качественный обзор современных методов микро- и наномасштабных исследований трехмерной структуры биологических объектов и материалов. Диссертант детально анализирует разнообразные технологии, такие как рентгеновская, электронная, зондовая и флуоресцентная микроскопия, и их возможности для реализации нанотомографии, что

позволяет получить полное представление о текущем состоянии научных разработок.

Глава 2 посвящена описанию материалов и методов, используемых в исследовании. Описанные методики и пробоподготовка образцов обеспечивают высокую степень воспроизводимости экспериментов. Ряд нюансов подготовки образцов различной природы имеет большое значение для успешного анализа их структуры новым методом флуоресцентной нанотомографии, поэтому стоит отметить подробность методических описаний для каждого изучаемого объекта, которая в данном случае отнюдь не является излишней. При этом все этапы описаны корректно и ясно.

Глава 3 охватывает разработку нового прибора для флуоресцентной оптической нанотомографии и его тестирование на примере анализа структур полимерных микросфер, покрытых квантовыми точками, и флуоресцентно окрашенной ткани печени крысы. В главе подобно описаны ключевые особенности устройства и функциональности приборного комплекса, дающие возможность комбинировать разные техники флуоресцентной микроскопии и ультрамикротомии и получать требуемые результаты для восстановления трехмерных структур. Все представленные данные подтверждают эффективность разработанного аппаратного комплекса.

В главе 4 рассматривается трехмерная структура нервной ткани, в частности анализ астроцитов в образцах гиппокампа мыши. Представленные результаты демонстрируют потенциал метода флуоресцентной оптической нанотомографии в нейробиологии. В частности показано, что разработанный метод позволяет анализировать флуоресцентно маркированные тонкие отростки астроцитов с разрешением по глубине значительно лучше оптического, определяемым исключительно толщиной сверхтонких срезов ультрамикротома. Все представленные данные и методы анализа обоснованы и соответствуют современным стандартам.

Глава 5 посвящена исследованиям полимерных микрокапсул, кодированных флуоресцентными квантовыми точками и магнитными наночастицами. Подобные микрокапсулы демонстрируют высокий потенциал для применения в биомедицинских исследованиях и клинической тераностике. В данной главе можно отметить использование техники магнитно-силовой микроскопии из арсенала зондовых методик, которая позволяет в дополнении к наноморфологии и флуоресцентным свойствам анализировать намагниченность наночастиц. Проведенный методами зондовой и оптической нанотомографии анализ структуры и наномасштабных характеристик оболочек микрокапсул и распределений наночастиц в них чрезвычайно важен для контроля и прогнозирования долговечности микрокапсул и их функциональных свойств.

Глава 6 посвящена анализу распределения доксорубина в клетках аденокарциномы человека MCF-7 с помощью корреляционной сканирующей флуоресцентно-зондовой нанотомографии. Доксорубин часто используется в качестве цитостатика при терапии онкологических заболеваний. Использование собственных флуоресцентных свойств доксорубина позволяет с высокой точностью оценивать его распределение методом флуоресцентной оптической нанотомографии. Полученные результаты подтверждают значимость разработанных методов для онкологических исследований и разработок новых лекарственных препаратов и средств их доставки.

В главе 7, наиболее объемной из всех глав, содержащих результаты собственных исследований, представлены результаты использования новой технологии нанотомографии для разработки и изучения биосовместимых скаффолдов и клеточно-инженерных конструкций на их основе. В качестве объектов исследования использованы скаффолды на основе фиброина шелка, матриксы на основе децеллюляризованной ткани печени человека и композитные скаффолды на основе фиброина шелка и микрочастиц внеклеточного матрикса печени человека. Полученные данные о морфологических параметрах и функциональности скаффолдов демонстрируют

эффективность технологии зондовой и оптической нанотомографии для подобных задач, а также подчеркивают потенциал разработанных скаффолдов для использования в регенеративной медицине.

Заключение подводит итоги работы, обобщая основные достижения и их значение для науки и практики. Этот раздел формулирует рекомендации, соответствующие полученным результатам, и подтверждает их практическую значимость.

Выводы четко связывают поставленные задачи с достигнутыми результатами, подчеркивая обоснованность и достоверность работы. Все представленные выводы соответствуют критериям научной работы.

В разделе **практические рекомендации** представлены предложения, основанные на результатах проведенного исследования, что способствует их внедрению в реальную практику. Эти выводы обоснованы и имеют значимое практическое значение для научного сообщества.

Автореферат точно отражает содержание диссертации и основные результаты, позволяя читателям быстро ознакомиться с ключевыми аспектами работы.

Объем диссертационной работы составляет 233 страницы машинописного текста, включает 3 формулы, 4 таблицы и 103 рисунка. В списке литературы содержится 228 источников, из которых 22 являются российскими, а 206 — зарубежными.

Подтверждение опубликованных результатов диссертации в научной печати

Результаты диссертационного исследования отражены в 31 научной статье, опубликованной в рецензируемых журналах, индексируемых в международных наукометрических базах (Scopus, Web of Science), и 10 патентах РФ на изобретение. Из них 17 научных статей опубликованы в

журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Основные результаты работы были неоднократно освещены на российских и зарубежных научных конференциях и симпозиумах, в частности 43 Конгрессе Европейского общества искусственных органов (ESAO), (Варшава, 2016 г.); 45 Конгрессе ESAO, (Мадрид, 2018 г.); IX Всероссийском съезде трансплантологов, (Москва, Россия, 2018 г.); IV Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019 г.); X Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием, (Москва, 2020 г.); V Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» с международным участием, (Москва, 2021 г.); XI Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (Москва, 2022 г.) и VI Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» с международным участием, (Москва, 2023 г.).

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

При изучении диссертации возник следующий вопрос:

Насколько уровень автофлуоресценции ловикрила, использованного в работе для заливки образцов нервной ткани, меньше, чем у эпоксидной среды, использованной для пробоподготовки образцов ткани печени и скаффолдов?

Поставленный вопрос носит дискуссионный характер и не влияет на положительную оценку диссертации в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Агаповой Ольги Игоревны на тему «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей» является законченным самостоятельным научно-квалификационным исследованием, в котором представлено решение актуальной научно-практической проблемы анализа трехмерных распределений флуоресцентных

маркеров и наноструктурных особенностей в полимерных микро- и макроносителях, клетках и тканях.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости она полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России», утвержденного приказом директора от 12.02.2021 №70/8, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук и соответствует специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, а ее автор, Агапова Ольга Игоревна, достоин присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики Центра исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)».



И.В. Манухов

Подпись доктора биологических наук, главного научного сотрудника, заведующего лабораторией молекулярной генетики, заместителя заведующего кафедры биофизики Манухова Ильи Владимировича удостоверяю:



Ученый секретарь МФТИ



Евсеев Евгений Григорьевич

12.11.2024г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)»

Почтовый адрес: 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9.

Телефон: +7 (495) 408-42-54. Электронная почта: info@mipt.ru