

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Папуги Олександра Євгенійовича “ Розробка термальних еквівалентів шкіри з використанням клітин людини і нових біоматеріалів для лікування масивних опіків”, подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Проблема лікування та відновлення нанесених опіками пошкоджень нерозривно супроводжує людство протягом всього його існування. При цьому, незважаючи на значний поступ, досягнутий сучасною медициною, проблема лікування опікових ушкоджень лишається невирішеною, гострою та потребує створення якісно нових методичних підходів. Тому тема розглянутої роботи та її мета – створення нових біотехнологічних ранових покриттів для лікування термічних опіків шкіри з використанням клітин людини їх носіїв на основі перспективних біоматеріалів – видаються актуальними та не викликають жодних заперечень ні з прикладного, ні з науково-пізнавального боків жодних заперечень не викликають. Відповідно до мети роботи поставлено низку практичних завдань, що включали розробка біотехнологічних ранових покриттів або еквівалентів дерми з використанням клітин установлених ліній і кондиційованих ними середовищ та носіїв природного або штучного походження; оптимізацію умов вирощування клітин і виготовлення безклітинних середовищ, кондиційованих стовбуровими клітинами, за тривалого зберігання; розробку технології отримання м'яких дермальних покриттів з включенням досліджуваних клітин; отримання зразків еквівалентів дерми з включенням біоматеріалів для проведення експериментів на модельних тваринах *in vivo*; перевірку терапевтичної ефективності створених зразків еквівалентів дерми на моделі термічних опікових ран у піддослідних тварин; визначення рівня окремих ростових та регуляторних білків в шкірі піддослідних тварин для з'ясування механізмів впливу досліджуваних зразків на процес регенерації шкіряного

покрову. Як впливає з переліку наведених завдань, йдеться проведення добре продуманої комплексної роботи, що включає проведення широкого набору біотехнологічних, біологічних, клітинних та біохімічних досліджень. Подібна деталізація видається виправданою і заперечень не викликає.

Дисертація побудована за традиційною схемою і містить анотацію, вступ, огляд літератури, методичну частину, два розділи, присвячені практичному вирішенню поставлених завдань, розділ, присвячений аналізу та узагальненню отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатку з переліком наукових робіт, опублікованих за темою дисертації.

Ознайомлення з оглядом літератури свідчить про належне ознайомлення автора з науковими даними з теми роботи. Наведений матеріал добре підібрано, згруповано та становить безсумнівний науково-пізнавальний інтерес сам по собі. Методична частина також заслуговує на схвалення, оскільки містить належний набір сучасних методів, що повною мірою відповідає виконанню поставлених завдань.

Внаслідок проведеної роботи отримано науково-практичні здобутки, що істотно розширюють методичні підходи для створення принципово нових технологій, перспективних для вирішення практичної задачі лікування та регенерації тканин після глибоких опіків. З використанням клітинної технології отримано еквіваленти дермального шару шкіри, з включенням клітин людини оригінальних ліній та їх похідних, тобто комплексів біологічно активних речовин, синтезованих клітинами в культурі. Проведено оцінку терапевтичної ефективності і безпечності створених комбінованих еквівалентів дерми. Відібрано найефективніші серед них, а саме: дермальні покриття на основі колагенової мембрани та поліакрилової кислоти, що містили іммобілізовані стовбурові клітини як оригінальної лінії 4BL, так і їх композицій з без клітинними системами. Варто підкреслити, що способи отримання цих біотехнологічних продуктів запатентовано. Заслуговує уваги й доведення можливості застосування для створення тимчасових еквівалентів

дерми безклітинних середовищ як самих по собі, так і кондиційованих *in vitro* стовбуровими клітинами, оскільки це істотно поліпшує економічні показники відповідного напрямку. На основі створених біокомпозитів розроблено пластичні мазеподібні суміші. Експериментально показано позитивний вплив створених біокомпозитів впливають на організм, стимуляцію ними регенеративних процесів на ранній стадії загоєння опіків, зниження рівня певних речовин, що обумовлюють процес запалення, майже до норми. Отримані результати видаються перспективними та вартими подальшого проведення, оскільки вони становлять пістави для проведення доклінічних досліджень, а у випадку позитивного результату – і до клінічних випробувань.

Рівень опублікованості наукових здобутків роботи повною мірою відповідає існуючим вимогам. Перелік публікацій нараховує 7 статей у фахових виданнях та наукових збірниках, два патенти України, матеріали дисертації доповідались на вітчизняних та міжнародних з'їздах та конференціях.

Високо оцінюючи роботу вцілому, маю кілька зауважень та запитань.

1. В наведених експериментальних результатах не завжди присутні показники контролю (відмічено по тексту). Це має бути виправлено.

2. Недостатньої уваги приділено питанням забезпеченню очистки опікових ран від продуктів розпаду ушкоджених тканин та обумовлених ними пошкоджень рани та оточуючих тканин. Питання це видається вкрай важливим і вартим додаткового обговорення.

3. Незрозуміло, чим керувався автор при виборі наночасток саме срібла та оксиду заліза. Чим, на думку автора, обумовлено відміни в виявлених ними ефектах?

4. Абсолютно необґрунтованою видається спроба застосування біоплівки симбіотичного організму *Medusomyces gisevii* як мембрани-носія для створення дермальних еквівалентів. Склад міжклітинної полімерної речовини будь-якої біоплівки – навіть після термічної інактивації власних

клітин - відзначається широким набором біологічно активних сполук, що своєю дією гарантовано пригнічуватимуть життєдіяльність абсолютно чужорідних подібній системі лабільних клітин. Тобто негативний результат цього фрагменту роботи був наперед передбачуваним. Те ж саме, до речі, можна сказати й про наведені в літературному огляді роботи – так званого “електропрядіння” – формування білкових волокон під дією високовольтного струму. Несумісність подібних структур з живими тканинами, а отже – й непридатність для створення термальних еквівалентів - також видаються більш ніж ймовірними.

5. В роботі наявні дрібні друкарські помилки (відмічено по тексту), що мають бути виправлені в остаточному варіанті оформлення роботи.

Як видно, зроблені зауваження не впливають на високу оцінку роботи в цілому. Можна впевнено зробити наступний висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які ставляться до кандидатських дисертацій. Розглянута робота є цілісним та завершеним дослідженням, котре повною мірою відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор – Папуга Олександр Євгенійович – заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент:

завідувач лабораторії біохімії

ДУ “Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України”

доктор біологічних наук, професор  Вервовка С.В.



