

ОТЗЫВ

официального оппонента, **Лысенко Юрия Андреевича**, кандидата биологических наук, доцента кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина», на диссертационную работу Левченко Владимира Михайловича «Сравнительная оценка морфофункциональных свойств фибробластов сельскохозяйственных животных», представленную в диссертационный совет Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных

1. Актуальность темы.

Изучение регенерации органов и тканей остается одним из самых значимых и актуальных направлений в современной медицине и биологии. В первую очередь, это обусловлено потребностью практической медицины, так как для разработки новых методов лечения просто необходимы фундаментальные знания относительно активации и взаимодействия различных клеточных типов органов в норме и при патологии.

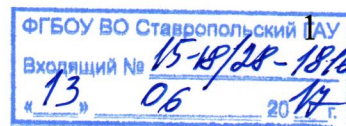
В рамках этого вопроса недостаточно изученными остаются морфологические и функциональные особенности аутологических дермальных фибробластов животных.

Основные функции, выполняемые дермальными фибробластами, – продукция компонентов МКМ, его организация и обновление, регуляторная роль в процессе воспаления, участие в заживлении ран и регуляция процессов дифференцировки эпидермиса. За счет секреции факторов роста, таких, как фактора роста кератиноцитов (KGF-1), гранулоцитарно колониестимулирующего фактора роста (GM-CSF), интерлейкинов (IL-6, IL-8) и непосредственного взаимодействия с эпителиальными клетками, дермальные фибробласты играют ключевую роль в регуляции морфогенеза эпидермиса. В связи с вышесказанным, представленное комплексное исследование по изучению морфофункциональных свойств фибробластов в видовом сравнительном плане является актуальным.

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

Диссертант провел глубокий анализ отечественных и зарубежных источников научной литературы по вопросам морфофункциональных особенностей и культуральных свойств фибробластов.

В соответствии с целью исследования Левченко В. М. сформулировал 4 задачи, которые позволили ему провести комплексное исследование вопроса с



помощью современных и разносторонних методов исследования – морфометрических, гистологических и статистических.

Научные положения, выводы и рекомендации по практическому применению результатов исследования, сформулированные и представленные в диссертационной работе, обоснованы фактическим материалом, который включает в себя достаточное количество наблюдений и исследований, проведенных в соответствии с целью и задачами диссертации. Методы, использованные автором в работе, специфичны, адекватны и отвечают современному научно-методическому уровню исследований.

3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

Достоверность проведенных соискателем исследований основана на том, что все экспериментальные данные получены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании с последующей статистической обработкой результатов, а также иллюстрирована таблицами, микрофотографиями.

Левченко В. М. впервые дана сравнительная характеристика функциональной активности аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных, культивируемых *in vitro*, модифицирована методика получения чистой культуры дермальных фибробластов овец, крупного рогатого скота, свиней, позволяющая получить культуру клеток в сжатые сроки соответствующие требованиям ОФС.1.7.2.0011.15.

Представленные в диссертационной работе рисунки и таблицы подтверждают достоверность выполненных автором исследований. Данные, полученные в ходе экспериментов, обработаны с использованием адекватных критериев на современном уровне. Все это позволило получить научные результаты, сделать обоснованные заключения и выводы, вытекающие из полученных данных.

4. Соответствие диссертации, автореферата и публикаций критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

Автореферат диссертации оформлен методически верно, содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

По материалам диссертации опубликовано 5 научных статей, в которых отражены основные результаты по теме исследования, в том числе 3 в изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени.

5. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.

Текст диссертационной работы написан и оформлен автором самостоятельно. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 85 %. Опубликованные результаты исследований подтверждают значительный вклад соискателя в решение поставленных задач.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

Представленная для оппонирования диссертационная работа Левченко В. М. является завершенным научным трудом. Она изложена на 116 страницах компьютерного текста и включает в себя введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования и их анализ, заключение, выводы, практические предложения, список использованной литературы.

Структура и содержание диссертационной работы соответствуют требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Работа иллюстрирована 19 таблицами и 22 рисунками, отражающими основное содержание результатов проведенных исследований, что значительно облегчает восприятие материала.

В разделе «Введение» диссертантом приведено обоснование выбранной темы, обозначен предмет, цель и задачи исследования, обоснована новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, методология и методы исследования, определены положения, выносимые на защиту, представлена степень достоверности и апробация результатов.

Раздел «Обзор литературы» включает 5 подразделов. В первом подразделе описаны морфофункциональные особенности и культуральные свойства дермальных фибробластов. Во втором подразделе дано описание областей применения культур клеток дермальных фибробластов. В третьем подразделе литературного обзора представлены существующие питательные среды для культивирования фибробластов. В четвертом описаны имеющиеся методики культивирования фибробластов. Пятый подраздел посвящен оценке жизнеспособности культуры фибробластов. По структуре литературный обзор показывает, что глубокий анализ источников позволил диссертанту определить цель и задачи предстоящего исследования.

Глава «Собственные исследования» состоит из двух разделов: «Материалы и методы исследований» и «Результаты исследований».

В разделе «Материалы и методы исследований» соискатель указывает места проведения исследований – кафедра терапии и фармакологии и «Научно-диагностический и лечебный ветеринарный центр» ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Автор работы поэтапно приводит сведения об исследованиях. Им была разработана и апробирована современная методика пересева аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных. Получены культуры аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных, соответствующие требованиям ОФС.1.7.2.0011.15. Проведены

сравнительные морфометрические исследования аутологичных дермальных фибробластов при их культивировании в среде DMEM. Оценена жизнеспособность культур клеток фибробластов по энтропийному эквиваленту. Проведены сравнительные исследования функциональной активности аутологичных дермальных фибробластов.

Для достижения поставленной цели и задач Левченко В. М. использовал комплексный подход к проведению исследования, включающий электронно-микроскопические исследования, методику экспертных оценок Шигана, масс-спектрометрическое и статистические методы исследования.

В разделе «Результаты исследований и их анализ» изложены результаты научных исследований, полученные в ходе проведенного соискателем эксперимента, которые включены в 4 подраздела.

В первом подразделе этой главы диссертант глубоко усовершенствовал методику культивирования аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных с использованием среды DMEM.

Во втором подразделе главы «Собственные исследования» дана достаточно подробная морфологическая характеристика культур аутологичных дермальных фибробластов разных видов сельскохозяйственных животных при их культивировании в среде DMEM.

Третий подраздел главы «Собственные исследования» автор посвящает сравнительной функциональной характеристике аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных в процессе культивирования на среде DMEM.

В четвертом подразделе этой главы автором оценена жизнеспособность культур клеток аутологичных дермальных фибробластов при их культивировании. Для оценки жизнеспособности культур клеток использовался в том числе и такой интегральный показатель как энтропийный эквивалент. Энтропийный эквивалент отражает состояние объекта с его термодинамической стороны, а его изменение объясняется однозначно: увеличение ЭЭ свидетельствует о росте энтропии системы.

В главе «Заключение» Левченко В. М. на основании собственных исследований подводит итог своей научной работы, приводит 8 аргументированных выводов, которые соответствуют задачам исследования, и дает 2 конкретных практических предложения.

Далее приведен список литературы, оформленный автором в соответствии с требованиями ГОСТ 7.1-2003.

7. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Так как работа имеет теоретическую значимость, ее результаты могут быть использованы в научных целях, при составлении учебных и справочных пособий, чтении лекций и проведении занятий по анатомии, физиологии и патофизиологии в учебных заведениях биологического профиля.

Предложенные диссертантом практические рекомендации целесообразно использовать в практической деятельности ветеринарных специалистов как перспективное направление в заместительной терапии.

8. Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати.

Результаты исследований нашли свое отражение в 5 научных работах, 3 из которых были опубликованы в рецензируемых журналах, входящих в «Перечень...» ВАК Минобрнауки РФ («Вестник АПК Ставрополя», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Научный журнал Кубанского государственного аграрного университета»).

9. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат изложен на 23 страницах и полностью соответствует содержанию диссертации, в нем изложены основные положения диссертации. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны.

10. Замечания и вопросы по диссертации.

В целом принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет. Наряду с общей положительной оценкой проведенного научного исследования возникли следующие замечания и вопросы:

1. Вы проводили оценку жизнеспособности культур клеток аутологичных дермальных фибробластов на основании энтропийного эквивалента, в чем заключается сущность данного метода и каковы его преимущества?

2. С какой целью были выбраны временные отрезки 24, 48 и 96 часов для изучения морфометрических показателей?

3. С чем вы связываете такую динамику изменения морфометрических показателей на выбранных вами временных отрезках?

4. Как вы видите дальнейшее развитие данной темы и области практического применения полученных вами материалов?

5. Чем вы можете объяснить изменение функциональной активности клеток в процессе культивирования *in vitro*, а так же поясните свой выбор оценки функциональной активности клеток на основании количества синтезируемого проколлагена?

11. Заключение.

Диссертация Левченко Владимира Михайловича на тему «Сравнительная оценка морфофункциональных свойств фибробластов сельскохозяйственных животных» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании проведенных соискателем исследований содержится решение задачи, имеющей существенное научное и практическое значение для ветеринарии, создает предпосылки к разработке новых подходов в лечении животных с использованием клеточных технологий, а в частности разработка

кожных эквивалентов для животных. Диссертация выполнена на актуальную тему, лично автором с достаточным объемом материала и с применением современных методов. По своему содержанию диссертационная работа соответствует специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных и отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор Левченко Владимир Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

«08» июня 2017 года

Официальный оппонент:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры биотехнологии,
биохимии и биофизики ФГБОУ ВО
«Кубанский государственный
аграрный университет
им. И.Т. Трубилина»

Лысенко Юрий Андреевич

Почтовый адрес: 350044, Россия, г. Краснодар, ул. Калинина, 13
Телефон: 8(961)518-07-22
E-mail: yuraduban45@mail.ru

Личную подпись доцента Лысенко Ю. А. заверяю:

Нар - о