

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор ФГБОУ ВО «Омский  
государственный аграрный университет  
имени П.А. Столыпина»

О.В. Шумакова

7 июня 2017 г.

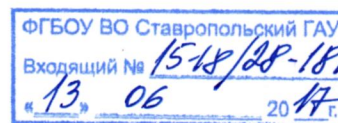
### ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина» 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.

Одним из важных направлений в развитии клеточных технологий является модификация существующих методик, используемых для восстановления структурной целостности и функциональной активности поврежденных тканей и органов. Использование традиционных методов лечения в терапии повреждений различной этиологии не всегда приводит к регенерации структурной целостности ткани. Заживление значительных повреждений кожи заканчивается образованием рубца, который нарушает структуру и функции ткани, исключение составляет восстановление поврежденной эмбриональной ткани, которое происходит без рубцевания.

Создание и использование модельных систем *in vitro* для изучения влияния продуцируемых фибробластами факторов роста на ускорение процессов заживления и восстановления пораженной дермы, возможности пересадки культуры клеток на раны различной этиологии перспективно. В связи с этим, диссертационное исследование, посвященное изучению морфофункциональных свойств фибробластов сельскохозяйственных животных, выполненное Левченко В. М., является актуальным для ветеринарной морфологии и восстановительной хирургии.



## **2. Новизна исследований и полученных результатов.**

Научная новизна диссертационной работы состоит в том, что автором впервые 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. Проведены сравнительные морфологические исследования и дана сравнительная характеристика функциональной активности аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных, культивируемых *in vitro*, дана оценка жизнеспособности культур клеток аутологичных дермальных фибробластов на основании энтропийного эквивалента.

## **3. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений.**

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе Левченко В. М., обоснованы фактическим материалом, который включает в себя достаточное количество различных исследований. Экспериментальная часть исследований проведена в условиях клиники кафедры терапии и фармакологии, научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Диссертантом четко сформулирована цель исследования на основе анализа научной литературы. Для ее реализации Левченко В. М. было поставлено 4 задачи. Конкретные задачи и правильные подходы к их решению дают представление об объеме проведенных исследований.

В своей работе автор применил различные современные методы исследования. Полученные данные статистически обработаны, оформлены в таблицы с глубоким их анализом, что определяет высокую степень доказательности исследования.

На основании полученных в результате исследований данных, автором сформулированы и представлены научные положения, выводы и рекомендации.

## **4. Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов.**

Данные исследований Левченко В.М. о морфофункциональных особенностях, площади клеток и монослоя, оптической плотности ядра, ядерно-цитоплазматического отношения, скорости адгезии и пролиферации клеток, синтезе проколлагена аутологичными дермальными фибробластами

сельскохозяйственных животных, культивируемых *in vitro*, а также данные об их жизнеспособности создают теоретическую базу для усовершенствования диагностики и лечения животных, а также позволяют более глубоко понять биологические процессы, происходящие в организме.

Полученные данные могут быть использованы в научных целях, при составлении учебных и справочных пособий, чтении лекций и проведении занятий по хирургии, патофизиологии и морфологии в учебных заведениях биологического и ветеринарного профиля.

## **5. Оценка содержания и оформления диссертации.**

Текст диссертации написан по общепринятой форме и включает в себя следующие главы: введение (6 стр.); обзор литературы (27 стр.); материалы и методы (8 стр.); результаты собственных исследований и их анализ (49 стр.), которые резюмированы заключением, завершены восемью выводами, двумя практическими предложениями. Список использованной литературы включает 170 источников, в том числе 61 зарубежных авторов.

Диссертация оформлена в соответствии с действующими требованиями, работа иллюстрирована 19 таблицами и 22 рисунками. Текст диссертации читается легко.

Глава «Обзор литературы» состоит из пяти разделов. В них содержатся сведения научной литературы по морфофункциональным особенностям и культуральным свойствам дермальных фибробластов млекопитающих. Автором приводятся области применения культур клеток дермальных фибробластов.

Описываются существующие способы приготовления питательные сред для культивирования фибробластов. Представленная в этом разделе информация показывает, что диссертант, при изучении научной литературы, аргументирует необходимость модернизации методики культивирования фибробластов, предлагает оптимизировать оценку их жизнеспособности.

В разделе «Материалы и методы исследования» Левченко В. М. указал, что экспериментальная часть исследований проводилась в условиях клиники кафедры терапии и фармакологии, научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Им использованы современные методы определения изучаемых показателей. В процессе работы диссертант применил электронно-микроскопические исследования, методику экспертных оценок Шигана, масс-спектрометрическое и статистические методы исследования. Использованные

методы в совокупности позволили реализовать цель исследования и решить поставленные задачи, которые обеспечили получение новых данных для морфологии, репаративной хирургии, что позволяет более детально изучить сущность регенеративных процессов и расширяет сведения в области заместительной терапии.

Глава «Собственные исследования» содержит результаты, которые получены соискателем в ходе проведения эксперимента и включает 4 раздела.

В первом разделе этой главы диссертант на основании исследований установил, что в полученных культурах аутологичных дермальных фибробластов овец, крупного рогатого скота и свиней в связи с двукратным промыванием биоптата кожи, более мягкой ферментативной дезагрегации материала отмечается фибробластический тип роста, гомогенная цитоплазма, культуры не содержат посторонних агентов, сохраняют стабильность всех биологических свойств в фазе активного роста, что соответствует ОФС.1.7.2.0011.15.

Во втором разделе главы «Собственные исследования» автором приведены сведения по изменениям параметров аутологичных дермальных фибробластов в условиях культивирования и накопления в себе достаточного количества питательных веществ, поглощённых из культуральной среды DMEM. В ходе изложения раздела дано объяснение замедлению увеличения показателей длины и ширины в промежутке 48 – 96 часов культивирования, которое автор связывает с истощением запасов питательных веществ в культуральной среде, развитием эндоплазматической сети и подготовкой клеток к синтезу белка и с тем, что клетки достигли своих максимальных размеров и переходят на следующий этап созревания.

В третьем разделе главы «Собственные исследования» дана сравнительная функциональная характеристика аутологичных дермальных фибробластов сельскохозяйственных животных в процессе культивирования на среде DMEM. В ходе изложения раздела представлены данные по динамике изменения количества синтезируемого проколлагена фибробластами сельскохозяйственных животных.

В четвертом разделе этой главы автором определена жизнеспособность культур клеток аутологичных дермальных фибробластов при их культивировании в среде DMEM по усовершенствованной методике. Учитывая то, что возникновение корреляционных связей морфометрических показателей отдельных клеток является результатом их взаимодействия между собой, наиболее приемлемым методом оценки жизнеспособности фибробластов автор предлагает применить энтропийный эквивалент, сформированный на основании трансформированной корреляционной матрицы.

В главе «Заключение» Левченко В.М. на основании собственных исследований подводит итог своей научной работы, приводит 8 выводов, которые соответствуют задачам, поставленным на разрешение при выполнении работы, и дает 2 практических предложения. Выводы в диссертационной работе сформированы из результатов проведенных исследований, аргументированы и убедительны. Практические предложения актуальны, отражают основные положения диссертационной работы и носят конкретный характер.

Материалы исследований, изложенные в диссертационной работе, обобщены и представлены в таблицах.

#### **6. Подтверждение опубликование основных результатов диссертации в научной печати.**

По материалам исследований опубликовано 5 научных статей, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 3 научные статьи в изданиях, включенных в «Перечень рецензируемых научных журналов и изданий...», рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций.

#### **7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.**

Автореферат изложен в объеме одного печатного листа и полностью соответствует содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в обоих документах идентичны.

#### **8. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.**

Левченко В.М. лично организовано и проведено диссертационное исследование, самостоятельно выполнен анализ состояния данного вопроса, сформулирована цель и задачи научного исследования, обоснован выбор материалов и методов, проведен анализ экспериментальных данных, сформулированы основные положения и выводы. Его результаты дополняют и углубляют существующие сведения о морфологии и функциональной активности аутологичных дермальных фибробластов. Диссертационная работа написана и оформлена лично автором, опубликованные результаты подтверждают ее существенный личный вклад в решение поставленной научной задачи в области ветеринарной морфологии.

## **9. Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертационной работы.**

Рекомендации, предложенные автором, имеют как теоретическое значение по фундаментальным вопросам морфологии клеток, так и в практической деятельности ветеринарных врачей для более глубокого понимания процессов регенерации и с возможностью разработки новых подходов в лечении заболеваний различной этиологии с применением культур клеток и кожного эквивалента.

Учитывая теоретическую значимость работы, результаты могут быть также использованы в учебном процессе в образовательных учреждениях биологического и ветеринарного направлений, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий по морфологии сельскохозяйственных животных, патофизиологии и ветеринарной хирургии.

## **10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации.**

По диссертационной работе Левченко В.М. принципиальных возражений не возникло. В то же время хотелось бы высказать некоторые замечания, пожелания, и по отдельным вопросам получить разъяснения.

1. В название работы следовало бы ввести определение «дермальные» фибробласты («Сравнительная оценка морфофункциональных свойств дермальных фибробластов у сельскохозяйственных животных»), оно бы приобрело большую конкретность и полнее отражало содержание диссертации.
2. С какой целью Вы получали фибробласты от разных видов животных? В ветеринарной практике чаще всего используют эмбриональные клетки, в чем преимущества вашей методики?
3. В таблице №1 Вами указано, что при культивировании по модифицированной вами методике на 56,3% увеличилось количество жизнеспособности клеток, за счет чего?
4. С чем Вы связываете активный рост фибробластов в 1-м и 2-м пассажах?
5. Поясните по какой причине для определения функциональной активности клеток в качестве основного показателя был выбран проколлаген? С чем вы связываете активный его синтез в культурах аутологичных дермальных фибробластов животных с 3-го пассажа?


## **11. Заключение.**

Диссертация Левченко В.М. «Сравнительная оценка морфофункциональных свойств фибробластов сельскохозяйственных

животных» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для биологии и ветеринарной медицины, выполнена на актуальную тему лично автором на достаточном для обобщения и выводов материале с использованием современных методов исследования. Полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение. По содержанию диссертация 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 от 24.09.2013 №842», предъявляемым к кандидатским диссертациям, 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.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии (протокол № 9 от 6 июня 2017 года) института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Отзыв составил:

доктор медицинских наук, профессор,  
профессор кафедры анатомии, гистологии, физиологии и  
патологической анатомии института  
ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский  
государственный аграрный университет  
имени П.А. Столыпина»  Семченко Валерий Васильевич

Почтовый адрес: 644122, г. Омск, ул. Октябрьская, 92,  
Институт ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский  
государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»  
Телефон: (3812) 23-74-71  
E- mail: ivm\_omgau\_gistology@mail.ru

