

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА  
Д001.004.01 НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 29 июня 2017 г. № 11

о присуждении Ельчанинову Андрею Владимировичу, гражданину Российской Федерации ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Молекулярные и клеточные механизмы регенерации печени после субтотальной резекции в эксперименте» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 23 марта 2017 года протокол №8 диссертационным советом Д 001.004.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418 г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3), сайт организации [www. morfolhum.ru](http://www.morfolhum.ru), созданном в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Ельчанинов Андрей Владимирович 1984 года рождения. В 2008 году соискатель окончил лечебный факультет Воронежской Государственной Медицинской Академии им. Н.Н. Бурденко. В 2011 году А. В. Ельчанинов защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на тему «Морфологическая характеристика репаративной регенерации фетальной печени крыс» по специальности клеточная биология, цитология, гистология (03.03.04) в диссертационном совете, созданном на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека». Работает старшим научным сотрудником лаборатории регенеративной медицины ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории роста и развития ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», лаборатории регенеративной

медицины ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант – Фатхудинов Тимур Хайсамудинович, доцент, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией регенеративной медицины ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты: 1. Онищенко Нина Андреевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, 2. Гумерова Аниса Азатовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 3. Темнов Андрей Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории редактирования генома ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации дала положительное заключение, подписанное заведующей кафедрой нормальной анатомии человека доктором медицинских наук, доцентом Алексеевой Н.Т., в котором указано, что диссертация Ельчанинова А.В. соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 с изменениями от 21 апреля 2016 г. №35), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени доктора медицинских наук.

Соискатель имеет 42 опубликованные научные работы, в том числе 17 – по теме диссертации, из них 12 работ опубликованы в журналах, входящих в

Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 1 статья опубликована в научном рецензируемом журнале, не входящем в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 4 публикации в материалах научных конференций. Все публикации по теме диссертации написаны в соавторстве, в 12 из них соискатель является первым автором, общий объем публикаций 124 страницы.

Наиболее значимые работы:

1. Экспрессия генов цитокинов и факторов роста в печени после субтотальной резекции у крыс. / Ельчанинов А.В., Фатхудинов Т.Х., Кананыхина Е.Ю., Усман Н.Ю., Арутюнян И.В., Макаров А.В., Быков А.В., Большакова Г.Б., Сухих Г.Т. // Гены и клетки. - 2016. -№1. - С. 61-67.
2. Роль прогениторных клеток в регенерации печени после субтотальной резекции. / Ельчанинов А.В., Фатхудинов Т.Х., Кананыхина Е.Ю., Усман Н.Ю., Арутюнян И.В., Макаров А.В., Быков А.В., Большакова Г.Б., Сухих Г.Т. // Клеточные технологии в биологии и медицине. - 2016. -№1. - С. 18-25.
3. Пролиферация и клеточная гибель гепатоцитов после субтотальной резекции печени крыс / Ельчанинов А.В., Фатхудинов Т.Х., Арутюнян И.В., Кананыхина Е.Ю., Макаров А.В., Большакова Г.Б., Сухих Г.Т.// Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. №3 – С. 22-30.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в работе отсутствуют.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы: 1. от доктора биологических наук, профессора, заведующего лабораторией клеточной патологии ФГБНУ Института цитологии РАН Кудрявцева Б.Н., 2. от доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБНУ Института иммунологии и физиологии УрО РАН Юшкова Б.Г., 3. от доктора биологических наук, главного научного сотрудника

ФГБНУ Национального научного центра морской биологии ДВО РАН Долматова И.Ю. Отзывы положительные, критических замечаний в отзывах по представленной работе нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи.

**Выбор** ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации в качестве ведущей организации обоснован тем, что на кафедре нормальной анатомии человека этого учреждения ведущими специалистами в течение многих лет проводятся исследования клеточных механизмов регенераторного процесса на модели кожных ран. **Выбор оппонентов обоснован тем, что:** 1. Онищенко Нина Андреевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России является одним из ведущих специалистов в области изучения механизмов регенерации нормальной и патологически измененной печени человека и млекопитающих, влияния МСК на репаративные процессы, 2. Гумерова Аниса Азатовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» является одним из ведущих специалистов, исследующих особенности регенерации печени млекопитающих после повреждений различной природы, вклад прогениторных клеток в процесс репаративной регенерации печени млекопитающих, 3. Темнов Андрей Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории редактирования генома ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России является автором научных публикаций в области

изучения механизмов терапевтической активности МСК при репаративной регенерации различных органов, в том числе печени млекопитающих.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** новая научная концепция – нарушения клеточных и молекулярных механизмов регенерации печени крыс после субтотальной резекции, обогащающая учение о регенерации тканей и органов млекопитающих; **охарактеризована** динамика пролиферации гепатоцитов печени крыс после субтотальной резекции как в раннем, так и позднем послеоперационном периоде; **продемонстрированы** возможные молекулярные механизмы митотического блока гепатоцитов в раннем послеоперационном периоде; **выявлена** экспрессия маркера малодифференцированных клеток SOX9 в гепатоцитах после субтотальной резекции печени крыс; **установлены новые данные** о миграции мультипотентных стромальных клеток, влиянии трансплантации мультипотентных стромальных клеток на регенерацию печени после субтотальной резекции. **Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны следующие положения:** **1.** В течение 30 часов после субтотальной резекции наблюдается временный блок митотического цикла гепатоцитов, который не приводит к повышению уровня апоптоза. Причиной митотического блока гепатоцитов является низкое содержание фактора некроза опухолей TNF $\alpha$  и фактора роста гепатоцитов HGF, что компенсаторно приводит к активации синтеза HGF в легких и почках. **2.** После субтотальной резекции наблюдается два пика митотической активности гепатоцитов: ранний - через 48-72 часа, и поздний - через 7 суток, которым соответствуют два периода повышения активности генов цитокинов и факторов роста, регулирующих пролиферацию гепатоцитов. Основным механизмом регенерации печени крыс после субтотальной резекции является пролиферация гепатоцитов, а не активация резидентных прогениторных клеток. **3.** Субтотальная резекция вызывает активацию популяции макрофагов печени, что проявляется в увеличении общего числа макрофагов (CD68+клеток) за счет их пролиферации и активации экспрессии генов цитокинов *il1b*, *il6*, *il10*. **4.** Трансплантация мультипотентных стромальных клеток в селезенку приводит к стимуляции регенерации печени

после ее субтотальной резекции, что характеризуется увеличением выживаемости крыс, стимуляцией пролиферации гепатоцитов, ускорением нормализации энергетического обмена митохондрий гепатоцитов. Трансплантированные мультипотентные стромальные клетки в течение трех суток элиминируются преимущественно за счет фагоцитоза макрофагами. **Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов** изучения репаративной регенерации печени крыс, включающих гистологическое и иммуногистохимическое исследование, молекулярно-биологические методы - ПЦР-РВ, вестерн-блот, иммуноферментный анализ, световую и флуоресцентную микроскопию, морфометрический и статистический анализ. **Изложены доказательства** того, что несмотря на выраженную регенераторную способность печени, субтотальная резекция является критической травмой, поскольку сопровождается гибелью до 50% оперированных крыс. Показано, что одним из ведущих механизмов, приводящих к высокой смертности лабораторных животных, является блок митотического цикла гепатоцитов при выходе из G<sub>0</sub>-периода. **Представлены доказательства** того, что основным механизмом восстановления массы печени крыс после субтотальной резекции является пролиферация гепатоцитов, а не дифференцировка прогениторных клеток, что показано с помощью изучения маркеров малодифференцированных клеток и молекулярных сигнальных путей, регулирующих активацию прогениторных клеток. **Установлены** особенности популяции макрофагов регенерирующей печени, которые представлены только резидентными клетками Купфера, экспрессирующими маркер M2-макрофагов. **Обнаружено**, что трансплантация мультипотентных стромальных клеток стимулирует регенерацию печени крыс после субтотальной резекции, при этом введенные мультипотентные стромальные клетки не дифференцируются в какой-либо из клеточных типов печени и быстро элиминируются макрофагами. **Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем**, что показана принципиальная возможность коррекции нарушения регенерации после субтотальной резекции печени с помощью мультипотентных стромальных клеток пупочного канатика, которые оказывают

паракринный эффект. **Оценка достоверности результатов работы выявила, что** обоснованность научных положений и выводов не вызывает сомнений. Результаты получены на сертифицированном оборудовании. Для решения поставленных задач автором был использован комплекс современных методов исследования: гистологических, иммуногистохимических, морфометрических, иммуноферментного анализа, молекулярно-биологических а также световой, флуоресцентной микроскопии. Большой объем материала, использование адекватных целям и задачам методов исследования и корректная статистическая обработка полученных данных определяют высокую достоверность выводов и положений. **Теория** построена на известных данных о наличии критической травмы, после которой регенерация органов либо невозможна, либо протекает с изменением молекулярных и клеточных механизмов, что было продемонстрировано на печени позвоночных животных других классов. Однако данные литературы не дают систематизированного представления о регенерации печени и ее клеточных и молекулярных механизмах после субтотальной резекции – удаления 80% тканей. **Идея исследования базируется** на анализе данных других авторов об изменчивости фенотипа гепатоцитов и на данных о вкладе других органов в регенерацию печени. **Использовано сравнение** собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по регенерации печени после повреждения разной природы. **Установлено совпадение части полученных результатов** о ведущем клеточном механизме восстановления массы печени – пролиферации гепатоцитов с данными, представленными в независимых источниках, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным. **Использованы представительные выборки** наблюдений на разных сроках после субтотальной резекции печени, а также современные методы морфометрического и статистического анализа, что позволило детально охарактеризовать репаративную регенерацию печени крыс после удаления 80% тканей печени. **Личный вклад соискателя состоит в:** планировании исследования, постановке цели и задач, проведении эксперимента, морфологического, иммуногистохимического, морфометрического исследования, анализе полученных данных, статистической обработке

результатов, личном участии в апробации результатов исследования, подготовке публикаций.

На заседании 29 июня 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Ельчанинову А.В. ученую степень доктора медицинских наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за 16, против-нет, недействительных бюллетеней-нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01

Член-корр. РАН

Л.В. Кактурский

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01

Д.М.В.



Л.П. Михайлова

«30 июня» 2017 г.