

морфологическая оценка получаемых биоинженерных конструкций позволит расширить наши знания о составе, строении децеллюляризованных матриц, механизмах взаимодействия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и тканеинженерных каркасов, дифференцировки стволовых клеток. Таким образом, в связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования представляется своевременной и актуальной.

Связь темы диссертации с планами отраслей медицинской науки

Диссертация Сотниченко А.С. финансируется грантом Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в Российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования от 19 октября 2011 г. №11.G34.31.0065.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе описан разработанный модифицированный детергент-энзиматический протокол децеллюляризации сердца крысы, позволяющий максимально эффективно сохранить гистологическую структуру внеклеточного матрикса сердца, его структурные белки (коллаген I и IV типа, ламинин, фибронектин, эластин), факторы роста (эндотелиальный фактор роста сосудов), элиминировать внутриклеточные и мембранные молекулы-антигены (ДНК, МНС I типа, фактор Виллебранда, тропомиозин, десмин), обеспечить щадящий режим обработки биологического материала, снизить концентрацию и время экспозиции детергентов, а также вероятность бактериальной контаминации получаемого каркаса.

Предложен способ эффективной рецеллюляризации внеклеточного матрикса сердца, впервые дана оценка жизнеспособности, адгезии и направлению дифференцировки мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на децеллюляризованном каркасе сердца крысы после их интравазального введения в ацеллюлярный сердечный матрикс.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Сотниченко А.С. выполнена на значительном объеме экспериментальных данных. В работе использовали 60 взрослых крыс-самцов линии Lewis. Децеллюляризация была отработана на 20 сердцах, для экспериментов по рецеллюляризации использовали сердца 20 крыс. 20 крыс составили группу нативного контроля. Обосновано использование примененных клеточных моделей, а также методов оценки цитотоксичности, внимание сосредоточено на разработке протокола децеллюляризации сердца крысы и последующей морфологической оценке полученного матрикса.

Цель и задачи сформулированы автором конкретно и четко и являются логичным следствием аналитического обзора большого количества зарубежных и отечественных источников литературы по изучаемой проблеме и отражают ее актуальность.

Поставленные в работе задачи решены на хорошем научно-методическом уровне с использованием как проверенных временем классических методов, так и современных методик исследования (культурального, иммуногистохимического, молекулярно-биологического, физического, гистологического) на сертифицированном оборудовании. Используемые методы исследования обоснованы, подробно описаны и адекватны поставленным задачам.

Научная интерпретация полученных данных, базирующаяся на указанных методах исследования, обуславливает высокую степень обоснованности научных положений, выводов, сформулированных автором в диссертации. Научные положения и рекомендации логично вытекают из выводов, соответствуют цели, задачам и содержанию диссертации.

Достоверность и репрезентативность данных, полученных при проведении экспериментов сомнения не вызывает, так как они статистически грамотно обработаны и все материалы исследований, изложенные в

диссертации, убедительно иллюстрированы поясняющими и подтверждающими изложенную информацию рисунками. Выводы и научные положения аргументированы и конкретны, соответствуют диссертационным критериям, установленным в Положении.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные автором результаты имеют большое значение для развития клеточной биологии, цитологии, гистологии (морфологическая оценка ацеллюлярного сердечного матрикса), биотехнологии (разработка протокола децеллюляризации сердца крысы) и тканевой инженерии. В результате проведенной работы апробирован новый метод рецеллюляризации ацеллюлярного каркаса сердца крысы. Автором показана потенциальная возможность метода интравазальной рецеллюляризации сердечного матрикса с сохранением жизнеспособности введенных клеток и индукцией в них потенции к дальнейшей эндотелиальной и мышечной клеточной дифференцировке без добавления в культуральную среду специфических ростовых и дифференцировочных факторов.

Данные проведенных экспериментальных исследований уточнили представления о процессах децеллюляризации сердца, морфологических, молекулярно-биологических и прочностных изменений, происходящих в матриксе в результате удаления клеток, расширили знания о процессе рецеллюляризации внеклеточного матрикса, создали основу для дальнейших разработок в области тканевой инженерии сердца.

Конкретные рекомендации по использованию результатов

и выводов работы

Полученные автором результаты исследования, в частности модифицированный детергент-энзиматический протокол децеллюляризации сердца крысы, могут быть в дальнейшем взяты за основу создания ацеллюлярного сердечного матрикса более крупных экспериментальных животных, таких как приматы, с их последующей рецеллюляризацией с

применением предложенного эффективного интравазального метода введения клеток.

Аналитические материалы диссертации используются в работе центральной научно-исследовательской лаборатории, лаборатории фундаментальных исследований в области регенеративной медицины ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, центра научно-инновационного развития ГБОУ ВПО СтГМУ Минздрава России, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. С. В. Очаповского» МЗКК, в лекционном курсе и при проведении практических занятий со студентами 3 курса лечебного и педиатрического факультетов и при проведении практических занятий с интернами по теме "Регенерация органов и тканей" на кафедре патологической анатомии, а также в лекционном курсе и при проведении практических занятий со студентами 3 курса лечебного и педиатрического факультета по дисциплине «Иммунология» на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России.

Структура диссертации традиционная. Работа написана хорошим литературным языком, иллюстрирована микрофотографиями отличного качества, графиками, таблицами.

Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 5 в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, получен 1 патент РФ на изобретение.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

Заключение

Диссертационная работа Сотниченко А.С. «Морфологическая характеристика каркаса тканеинженерного сердца и его взаимодействия с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками», выполненная под руководством д.б.н. профессора Славинского А.А. является

