

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВО

«КФУ им. В.И. Вернадского»
профессор

Сергей Иванович Федоркин



«05

апреля

2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

о научно-практической ценности диссертации

Сотниченко Александра Сергеевича «Морфологическая характеристика каркаса тканеинженерного сердца и его взаимодействия с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

В развитии современной тканевой инженерии приоритетным направлением является разработка биоинженерных каркасов и биоматериалов, применение которых позволило бы решать как этические, так и иммунологические проблемы трансплантологии. Неспособность природных материалов полностью воспроизводить сложную структуру межклеточного матрикса привела к необходимости использовать децеллюляризированные естественные межклеточные матриксы, полученные от доноров. Методы оценки эффективности децеллюляризации, поиск ее оптимального протокола требуют проведения морфологических исследований, направленных на всестороннее изучение структур получаемых каркасов. Перспективы применения децеллюляризированных естественных органов будут зависеть от выработки специфичных для каждой ткани методов ее получения и оценки.

В современной научной литературе не достаточно исследованы морфологические свойства децеллюляризированных сердечных матриков, механизмы их взаимодействия со стволовыми клетками. Всесторонняя

морфологическая оценка получаемых биоинженерных конструкций позволит расширить наши знания о составе, строении децеллюляризованных матриков, механизмах взаимодействия мультипотентных мезенхимальных стromальных 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 финансирована 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, имmunогистохимического, молекулярно-биологического, физического, гистологического) на сертифицированном оборудовании. Использованные методы исследования обоснованы, подробно описаны и адекватны поставленным задачам.

Научная интерпретация полученных данных, базирующаяся на указанных методах исследования, обусловливает 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 имmunологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППСГБОУ 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

научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача современной клеточной биологии, цитологии, гистологии – морфологическая характеристика изменений структур сердца после децеллюляризации и оценка его пригодности для последующей рецеллюляризации. Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, биотехнологии и тканевой инженерии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Сотниченко А.С. соответствует требованиям п.9. «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г.№842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология», а её автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология».

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры гистологии и эмбриологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (протокол № 32 от 5 апреля 2016 года).

Заведующая кафедрой гистологии и эмбриологии
Медицинской академии имени С.И. Георгиевского
ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского»
доктор медицинских наук по специальности
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология,
профессор
Шаповалова
295007 г. Симферополь, проспект Вернадского д.4
Тел.8 (3652) 54-50-36
www.cfuv.ru; e-mail: cf_university@mail.ru

Подпись д.м.н. профессора Шаповаловой Е.Ю. заверяю
Директор Медицинской академии
имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО
«КФУ имени В.И. Вернадского», профессор



Н.В. Иванова