

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д001.004.01 НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ
НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 26 мая 2016 г. № 4

О присуждении Сотниченко Александру Сергеевичу, гражданину Российской Федерации ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Морфологическая характеристика каркаса тканеинженерного сердца и его взаимодействия с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками» по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 17 марта 2016 года протокол № 3 диссертационным советом Д 001.004.01 на базе ФГБНУ «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 Сотниченко Александр Сергеевич 1988 года рождения. В 2011 году соискатель окончил Кубанский государственный медицинский университет. В 2015 году окончил аспирантуру на кафедре патологической анатомии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Работает научным сотрудником лаборатории фундаментальных исследований в области регенеративной медицины и ассистентом кафедры патологической анатомии Кубанского государственного медицинского университета.

Диссертация выполнена на кафедре патологической анатомии и в лаборатории фундаментальных исследований в области регенеративной медицины государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Кубанский государственный

медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель – Славинский Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России.

Официальные оппоненты: 1. Фатхудинов Тимур Хайсамудинович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией регенеративной медицины ФГБУ "Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова" МЗ РФ 2. Вахрушев Игорь Викторович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующей кафедрой гистологии и эмбриологии Шаповаловой Е.Ю. указала, что диссертация 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 сам автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук. Соискатель имеет 52 опубликованные научные работы, в том числе 15 - по теме диссертации, из них 5 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях, получен 1 патент РФ на изобретение, 10 публикаций - в материалах научных конференций. Все публикации написаны в соавторстве, в 8 из них соискатель является первым автором, общий объем публикаций 65 страниц.

1. Наиболее значимые работы: 1. Губарева Е. А. **Сотниченко А.С.**, Гилевич И.В., Маккиарини П. Морфологическая оценка качества децеллюляризации сердца и диафрагмы крыс //Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. –

2012. – Т. 7. – №. 4. – С. 20-27. 2. **Сотниченко А. С.**, Губарева Е. А., Гилевич И. В., Куевда Е. В., Крашенинников С.В., Григорьев Т. Е., Чвалун С. Н., Маккиарини П. Децеллюляризированный матрикс сердца крысы как основа для создания тканеинженерного сердца //Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. 8. – №. 3. – С. 86-94.

3. **Сотниченко А. С.**, Славинский А. А., Гилевич И. В., Куевда Е. В., Гуменюк И. С., Губарева Е. А., Маккиарини П. Структурные основы взаимодействия мезенхимальных стволовых клеток с децеллюляризированным матриксом сердца крысы // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 2 (151). – С. 140-146.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы: 1. От доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России Смирнова А.В.; 2. доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО "Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко" Минздрава России Даниленко В.И. 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 достаточном научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи. **Выбор** Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» в качестве ведущей организации обоснован тем, что на кафедре гистологии и эмбриологии ведущими специалистами в течение многих лет проводятся исследования по разработке и морфологической характеристике биоинженерных конструкций на основе коллагенового каркаса с заселением их мультипотентными стромальными клетками. **Выбор оппонентов:** 1. Фатхудинов Тимур Хайсамудинович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией регенеративной медицины ФГБУ "НЦАГиП им. В.И. Кулакова"

МЗРФ является автором научных публикаций по регенерации миокарда при трансплантации моноклеарных клеток костного мозга. 2. Вахрушев Игорь Викторович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» является одним из ведущих специалистов в области применения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в тканевой инженерии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** новая научная идея, обогащающая научную концепцию о принципиальной возможности создания тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризованного внеклеточного матрикса сердца с последующей его рецеллюляризацией; **предложена** оригинальная научная гипотеза о том, что децеллюляризованный сердечный матрикс без добавления в культуральную среду специфических ростовых факторов способен обеспечить дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в направлении эндотелиальных и мышечных; **доказана** перспективность использования ацеллюлярных сердечных внеклеточных матриксов, рецеллюляризованных стволовыми клетками, для создания тканеинженерного сердца. **Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны следующие положения:** в децеллюляризованном каркасе сердца, полученном с помощью модифицированного протокола с применением детергентов и энзимов, отсутствуют клетки, клеточные ядра, белки клеточных мембран (МНС I типа), внутриклеточные секреторные (фактор Виллебранда) цитоскелетные (десмин) и сократительные белки (тропомиозин), снижено содержание ДНК до 20%. При этом сохраняются белки внеклеточного матрикса (коллаген I и IV типа, ламинин, эластин, фибронектин) и фактор роста эндотелия (VEGF). По сравнению с исходными повышаются в 1,8-1,9 раза основные прочностные механические характеристики каркаса сердца. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, заселенные на децеллюляризованный матрикс сердца крысы, способны прикрепляться к нему, сохраняют

жизнеспособность и метаболическую активность, а также проявляют потенциал к дифференцировке в эндотелиальном и мышечном направлении без добавления факторов роста и дифференцировочных сред. **Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов** оценки качества проведения децеллюляризации и рецеллюляризации тканей, включающих гистологическое, иммуногистохимическое исследование, сканирующую электронную микроскопию, анализ содержания элементов антиоксидантной системы в тканях, применен широкий спектр антител к основным компонентам экстрацеллюлярного матрикса, внутриклеточным и мембранным белкам. В работе использован молекулярно-биологический метод для количественного определения содержания сохранившейся длинноцепочечной ДНК, оценены основные биомеханические свойства скаффолда. Проведена статистическая обработка полученных численных данных; **изложены** доказательства того, что в ацеллюлярном матриксе сердца крысы не происходит существенного снижения уровня основных структурных белков внеклеточного матрикса (коллагена I и IV типов, ламинина, эластина, фибронектина), сохраняются факторы роста (VEGF), вместе с тем эффективно удаляются внутриклеточные и мембранные молекулы-антигены (ДНК, МНС I типа, фактор Виллебранда, тропомиозин, десмин); представлены доказательства того, что коронарные сосуды являются проходимыми для растворов и клеточной суспензии, основные механические прочностные характеристики в децеллюляризованном органе не только не снижаются, а наоборот возрастают; **проведена модернизация** существующей методики рецеллюляризации матрикса сердца клетками путем проведения ретроградной перфузии через аорту клеточной суспензией; **раскрыты** существенные проявления теории о том, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, культивируемые на внеклеточном матриксе, сохраняют жизнеспособность, метаболическую активность и потенциал к дифференцировке в направлении эндотелиальных и мышечных клеток. **Значение полученных соискателем результатов** исследования для практики подтверждается тем, что экспериментальные данные, полученные после рецеллюляризации

мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками децеллюляризованного матрикса, **создают основу** для принципиальной возможности разработки тканеинженерных конструкций на основе децеллюляризованного матрикса сердца. **Оценка достоверности результатов работы выявила:** результаты получены на сертифицированном современном оборудовании – световой микроскоп Olympus IX51 (Япония), модульная система заливки Leica EG1150H (Германия), гистопроцессора Leica TP1020 (Германия), сканирующего электронного микроскопа JSM6490, JEOL (Япония), спектрофотометра NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA), универсальных испытательных машин фирмы Инстрон модель 5965 (датчик 50 Н) и на Lloyd LRX (100 N load cell), микропланшетного ридера Fluostar OPTIMA (BMGLABTECH, Германия), системы для молекулярного имиджинга IVIS spectrum Imaging System (Perkin-Elmer, США); **теоретическое обоснование** исследования построено на известных данных о том, что для создания биологических каркасов необходимо с целью снижения иммуногенности децеллюляризовать нативные органы. Процесс децеллюляризации должен быть нацелен на сохранение биохимического состава, тканевой структуры, а также механических свойств сохранившегося внеклеточного матрикса на оптимальном уровне; **идея исследования базируется** на анализе данных других авторов, описывающих децеллюляризованные органы, такие как сердце, легкие, печень, почки и попытки их ортотопической трансплантации после рецеллюляризации; **использовано сравнение** собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по тематике, посвященной тканевой инженерии сердечной ткани; **установлено совпадение части полученных результатов с** данными, представленными в независимых источниках по данной тематике, в частности о том, что после децеллюляризации в матриксе отсутствуют сохранные клетки и ядра, а остаточная двухцепочечная ДНК сохраняется в следовых количествах. **Личный вклад соискателя состоит в** планировании исследования, разработке протоколов децеллюляризации и рецеллюляризации сердца, проведении морфологического и иммуногистохимического

исследования, количественного анализа содержания ДНК и элементов антиоксидантной системы, проведении культуральных работ, статистическом анализе полученных численных данных, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация Сотниченко А.С. является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – охарактеризованы морфологические изменения структур сердца после децеллюляризации и доказана возможность его использования для последующей рецеллюляризации. Работа полностью 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. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в работе отсутствуют.

На заседании 26 мая 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Сотниченко А.С. ученую степень кандидата медицинских наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, из 21 человека, входящего в состав в совета, проголосовали: за - 18, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01

Член-корр. РАН



Л.В. Кактурский

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01

Д.М.Н.



Л.П. Михайлова



«27» мая 2016 г.