

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Саая Шораан Биче-оолович «Изготовление и изучение в эксперименте клеточно-заселенного сосудистого протеза», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы Тканевая инженерия с применением аутологичных клеток человека является в настоящее время одним из активно развивающихся направлений регенеративной медицины. Такая технология находит свое применение и в сердечно-сосудистой хирургии, что особенно важно в связи с тяжестью течения сосудистых заболеваний человека. В диссертационной работе Саая Шораан Биче-оолович предлагается провести оптимизацию заселения трансплантатов сосудов эндотелиальными и гладкомышечными клетками миокарда пациентов с использованием компонентов естественного матрикса сосудов, что является перспективными для создания индивидуальных клеточно-наполненных протезов сосудов. Таким образом, представленная работа направлена на решение актуальной задачи современной медицины и является перспективным направлением в инженерии сосудистых трансплантатов.

Научная новизна диссертационной работы не вызывает сомнения. Автором впервые разработан оригинальный протокол получения эндотелиальных и гладкомышечных клеток из миокарда человека. Впервые разработана методика двухслойного заселения эндотелиальными и гладкомышечными клетками 3D матрицы, применяемой для протезирования сосудов и определен тип такой матрицы. Показано оптимальное заселение матрицы эндотелиальными и гладкомышечными клетками, сохраняющими функциональные свойства. Впервые оценена неоэндотелизация и тромборезистентность клеточно-заселенных 3D матриксов в биологической модели.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационного исследования. Проведенные исследования важны для фундаментальной науки, так как полученные результаты расширяют наши

представления о физиологических свойствах сосудистой системы. Разработка технологии получения клеточных популяций с целью ремоделирования сосудистого просвета для создания клеточно-заселенных тканеинженерных конструкций имеет, несомненно, практическую значимость и перспективу для использования таких технологий в клинической медицине. Проведенная оценка биологической совместимости тканеинженерных конструкций в эксперименте *in vivo* указывает на перспективность создания персонализированных клеточно-наполненных трансплантатов.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Основные результаты по созданию клеточных линий из миокарда человека, а также по созданию тканеинженерных конструкций с клеточным заселением получены лично автором. Достоверность полученных в диссертационной работе результатов не вызывает сомнения. Все исследования проведены с привлечением современных экспериментальных методик клеточной биологии высокого технологического уровня. Выводы и рекомендации диссертационной работы корректны и в полной мере отражают полученные результаты

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа Саая Шораан Биче-оолович изложена на 116 страницах машинописного текста. Она состоит из глав «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследования», «Обсуждение полученных результатов», «Выводы», «Практические рекомендации». Список цитируемой литературы содержит 3 отечественных и 163 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 7 таблицами и 34 рисунками.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранного исследования, на основании чего четко формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов.

Обзор литературы состоит из 3-х больших глав. Первая глава посвящена ишемическим заболеваниям периферических артерий. В этой главе представлена информация об эпидемиологии заболеваний периферических артерий и методах хирургического лечения. Вторая глава посвящена созданию сосудистых протезов с

помощью тканевой инженерии, где достаточно подробно представлены современные данные о тканевой инженерии сосудов с использованием биологических и синтетических биоразлагаемых полимерных каркасов. Наконец, в 3-й главе представлены данные научной литературы об использовании клеточных технологий для создания тканеинженерных сосудов. Автором проанализированы современные проблемы, касающиеся создания тканеинженерных конструкций для получения клеточно-наполненных трансплантатов.

Материалы и методы исследования адекватны поставленной цели и решаемым задачам. В работе использован необходимый набор современных методов клеточной биологии, электронной микроскопии, морфологические методы, МРТ анализ, а также хирургические методики.

В главе «Результаты исследования», где представлены результаты собственных исследований, последовательно приводятся этапы проведения экспериментов. На первом этапе была проведена характеристика несортированных клеток кардиального экспланта, выращенных на среде без и с добавлением ростовых факторов. Приведены также результаты по обогащению культур клеток кардиального экспланта человека, после чего проведена оценка процентного содержания маркеров с помощью проточной цитофлуориметрии. Проведен также анализ ультраструктуры обогащенных эндотелиальных клеток. Следующим этапом исследование была оценка функциональных свойств *in vitro* и *in vivo* обогащенных культур кардиальных эксплантов, а также сравнительный анализ применения эндотелиальных и гладкомышечных клеток на синтетических и естественных материалах. На заключительном этапе исследования с помощью экспериментов *in vivo* была проведена оценка био- и тромборезистентности тканеинженерных конструкций из ПКЛ с МПВС, апплицированных донорскими ЭК и ГМК в эксперименте на иммунодефицитных мышах. Все полученные результаты были обсуждены с современных позиций клеточной биологии и трансплантологии. На основании полученных результатов исследования автором формулируются выводы и заключение. В целом, считаю, что диссертационная работа Саая Шораан Биче-оолович выполнена на высоком научно-методическом уровне.

Результаты проведенного исследования убедительно показали, что эндотелиальные и гладкомышечные клеточные культуры, полученные из

послеоперационного материала кардиальных эксплантов человека, функционально активны как *in vivo*, так и *in vitro*, они могут заселять синтетические и биологические матрицы. Все это делает разработанную технологию перспективной для использования в клинике при аутотрансплантации сосудов. Такие результаты, без сомнения, представляют интерес и для научно-исследовательских учреждений, занимающихся проблемами тканевой инженерии. Использование результатов исследования, полученных Саая Шораан Биче-оолович, представляется также целесообразным для молекулярных и клеточных биологов, патофизиологов и трансплантологов.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на семи российских и международных конференциях. По результатам диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, в том числе одна в международном научном журнале. Выводы диссертации соответствуют цели, задачам и основным положениям.

При прочтении диссертации у меня возникли некоторые вопросы, главным образом, дискуссионного характера:

1. Оценивалось ли «репликативное старение» созданных клеточных культур для прогноза количества делений в условиях *in vivo*?
2. Хотелось бы знать мнение автора о возможных клинических осложнениях при применении тканеинженерных конструкций с клеточным заселением.
3. Так как целью исследования являлось использование разработанной технологии в будущем для протезирования сосудов, возникает вопрос получения клеток из миокарда: всегда ли это будет возможно для пациента?

Приведенные выше вопросы носят, в основном, дискуссионный характер и не снижают моей высокой оценки выполненной работы.

Заключение. Диссертационная работа Саая Шораан Биче-оолович на тему «Изготовление и изучение в эксперименте клеточно-заселенного сосудистого протеза», представленная на соискание степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная

биология, цитология, гистология, соответствует критериям пп. 9-14 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а её автор Саая Шораан Биче-оолович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент

доктор биологических наук,
профессор, руководитель лаборатории
молекулярных механизмов
канцерогенеза Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения «Научно-
исследовательский институт
молекулярной биологии и биофизики»
630117, Россия, г. Новосибирск,
ул. Тимакова, 2/12,
Тел. 8(383) 335-98-47
imbb@niimbb.ru
<http://niimbb.ru>



Гуляева Людмила
Федоровна

Подпись профессора Гуляевой Л.Ф.

заверяю:

Ученый секретарь, к.б.н.

01 декабря 2017 г.



Сафронова
Ольга Геннадьевна

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

В диссертационный совет Д 208.063.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Сибирский Федеральный Биомедицинский Исследовательский Центр Имени Академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

(630055, г. Новосибирск, Речкуновская, 15)

в аттестационное дело

Саая Шораан Биче-оолович

Фамилия, имя, отчество	Гуляева Людмила Федоровна
Гражданство	РФ
Ученая степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	03.00.03 – молекулярная биология; 03.00.04 - биохимия
Ученое звание	Профессор
Основное место работы (полное наименование организации в соответствии с Уставом)	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики»
Наименование подразделения	лаборатория молекулярных механизмов канцерогенеза
Должность	Руководитель лаборатории
Телефон	388-334-8840
Электронная почта	gulyaeva@niimbb.ru
По профилю отрасли науки оппонируемой диссертации имеется <u>12</u> работ, в том числе: 1. Khvostova EP, Otpuschennikov AA, Pustylnyak VO, Gulyaeva LF. Gene Expression of Androgen Metabolising Enzymes in Benign and Malignant Prostatic Tissues // Horm Metab Res. 2015, Vol. 47 (2):119-124 2. Koval OA, Sakaeva GR, Fomin AS, Nushtaeva AA, Semenov DV, Kuligina EV, Gulyaeva LF, Gerasimov AV, Richter VA. Sensitivity of endometrial cancer cells from primary human tumour samples to new potential anticancer peptide lactaptin // Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2015, Vol 11 (2): 345-351. 3. Titov SE, Ivanov MK, Karpinskaya EV, Tsivlikova EV, Shevchenko SP, Veryaskina YA, Akhmerova LG, Poloz TL, Klimova OA, Gulyaeva LF, Zhimulev IF, Kolesnikov NN. miRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors. BMC Cancer, 2016, 16:201. 4. Titov SE, Demenkov PS, Ivanov MK, Malakhina ES, Poloz TL, Tsivlikova EV, Ganzha MS, Shevchenko SP, Gulyaeva LF, Kolesnikov NN. Selection and validation of miRNAs as normalizers for profiling expression of microRNAs isolated from thyroid fine needle aspiration smears. Oncol Rep. 2016, 36(5):2501-2510. 5. Gulyaeva LF, Kushlinskiy NE. Regulatory mechanisms of microRNA expression. J Transl. Med. 2016; 14(1):143-153.	

Даю согласие стать официальным оппонентом по диссертации и согласие на обработку персональных данных.
Официальный оппонент

01.02.2017



Гуляева Л.Ф.