

ОТЗЫВ

на автореферат А.С.Насрединова «Тканевая инженерия кровеносных сосудов малого калибра на основе децеллюляризованной артерии пуповины человека», представляемой на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная биология; цитология и гистология (медицинские науки)

Достижения тканевой инженерии в мире во многом связаны с разработкой методов выделения внеклеточного матрикса органов и тканей, в том числе и сосудов, методом децеллюляризации. Децеллюляризованные ткани сохраняют механическую прочность и нативную структуру исходных тканей, что делает их наиболее подходящим субстратом для последующего заселения клетками реципиента и создания био-инженерных тканей и сосудов. При этом большое значение качеству удаления местных клеток из ткани, поскольку отсутствие в трансплантате донорских клеток обеспечивает отсутствие иммунного ответа реципиента на трансплантат. Основа ткане-инженерных сосудов в данной работе была создана методом децеллюляризации артерии пуповины человека при сохранении целостности внеклеточного матрикса. Целью работы было создание технологии приготовления *in vitro* кровеносных сосудов диаметром 3-4 мм, которые были бы идентичны по своим биологическим свойствам нативным артериям, с помощью методов тканевой инженерии. Согласно автору артерии малого калибра наиболее повреждаемы в организме, и, соответственно, наиболее востребованы в современной медицинской практике.

Как основе для создания ткане-инженерных кровеносных сосудов были выбраны артерии пуповины человека. Автор детально обосновал свой выбор необходимостью разработки технологии создания кровеносных сосудов именно на человеческом материале а, из-за невозможности экспериментировать на человеке, испытание создаваемых биоинженерных конструкций выполнить на экспериментальных животных, в частности, на крысах.

Необходимо отметить, что был проделан большой объем качественной экспериментальной работы, что позволило автору получить результаты, которые он и собирается представить к защите. Обращает на себя внимание широта списка примененных методик оценки биологических свойств приготовленных тканевых конструкций.

Для децеллюляризации использовали стандартные детергенты и ферменты. Был

разработан «оригинальный» способ децеллюляризации артерий пуповины комбинированным детергентно-ферментным способом. Как указывает автор, это был эмпирический поиск, завершившийся получением патента РФ. Описанный способ отличается составом, последовательностью и длительностью применения децеллюляризирующих агентов, их более низкой концентрацией и наличием дополнительного физического воздействия – вибрации, что ранее не описано, но, по мнению автора, положительно повлияло на результат.

Данные морфологического и иммуноцитохимического контроля (не выявление экспрессии антигенов CD31 и альфа –актина а также неопределяемость ДНК и РНК в децеллюляризованных артериях пуповины) свидетельствуют об успешном удалении из основы клеток, клеточного дебриса и нуклеиновых кислот, что, несомненно, лишило ВКМ видоспецифических антигенных свойств и стало одной из причин отсутствия воспаления в трансплантате *in vivo*. Результаты позволили автору сделать вывод о сохранении нативной структуры ВКМ после децеллюляризации и перейти к следующему этапу конструирования биоинженерных артерий - рецеллюляризации сосудов в опытах *in vitro* и *in vivo*. В качестве источника клеток для рецеллюляризации были использованы полученные из костного мозга и жировой ткани крысы Вистар мезенхимальных стволовых клеток 3-4 пассажей, обладающих высоким дифференцировочным потенциалом.

Для рецеллюляризации автор успешно применил физиологический подход, т.к. в биореакторе функционируют естественные механизмы, регулирующие клеточный состав сосудов как *in vitro*, так и *in vivo*. Дальнейшая рецеллюляризация развивалась после пересадки прекондиционированной ткане-инженерной конструкции на подготовленное место в аорте крысы. Представляет интерес оценка источника клеток формирующейся стенки сосудов. Происходят ли они из клеток, заселивших сосуды в биореакторе в течение 5-ти суток, или происходят из клеток крови. Можно согласиться с автором, что в основе этого лежит размножение и гибель клеток, осевших на стенке сосуда в биореакторе (меченых PKS26 клеток) и замещение их стволовыми клетками из крови реципиента.

В целом можно согласиться с автором, что разработан новый способ создания ткане-инженерных сосудов диаметром 3-4 мм на основе децеллюляризованной артерии пуповины и мезенхимных стволовых клеток реципиента. Такие «искусственные» сосуды, могут стать альтернативой используемым в настоящее время материалам в реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии.

Замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет.

В работе совмещены самые различные методы исследования, в результаты применения которых автор внес преимущественный вклад. Автор претендует на защиту по

двум специальностям, сердечно-сосудистой хирургии (14.01.26) и клеточной биологии, цитологии и гистологии (03.03.04). Принадлежность работы к сердечно-сосудистой хирургии не вызывает сомнения. Необходимо отметить, что данные, полученные при морфологических и иммуноморфологических исследованиях, не являются только иллюстрацией событий, развивающихся в тканях при конструировании био-инженерных артерий, а органически входят в русло исследований как необходимые компоненты, участвующие в формировании направлений работы и отдельных выводов. Объем и значимость цито-гистологических исследований в работе позволяет автору претендовать на степень кандидата медицинских наук и по специальности 03.03.04 –клеточная биология, цитология и гистология.

Заключение: диссертационное исследование «Тканевая инженерия кровеносных сосудов малого калибра на основе децеллюляризованной артерии пуповины человека» является завершённой квалификационной работой на соискание ученой степени кандидат медицинских наук, а автор работы А.С.Насрединов заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология и гистология (медицинские науки).

Доктор биологических наук, профессор,
руководитель группы генетики клеточных популяций
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук

В. М. Михайлов

194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, 4
<http://www.cytspb.rssi.ru/>
Телефоны: +7 (812) 297-18-29, +7 (812) 297-18-34
Факс: +7 (812) 297-35-41
Электронная почта: vmikhailov@mail.cytspb.rssi.ru

Подпись В.М.Михайлова «ЗАВЕРЯЮ»
Зав. канцелярией



15.08.2016г