

ОТЗЫВ

Кандидата медицинских наук (03.00.25 - Клеточная биология), доцента, Деева Романа Вадимовича, первого заместителя директора НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» на диссертационную работу официального оппонента Минайчева Владислава Валентиновича «КЛЕТОЧНЫЕ И ТКАНЕВЫЕ АСПЕКТЫ БИОСОВМЕСТИМОСТИ КАЛЬЦИЙ - ФОСФАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫМ СИНТЕЗОМ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

Актуальность темы диссертации.

Диссертация посвящена актуальной теме – взаимодействию синтезированных оригинальных кальций-фосфатных материалов с различными клетками *in vitro* и влиянию на гистогенетические процессы этих материалов в гетеротопическом тканевом реципиентом ложе. Следовательно, в круг внимания и научной разработки автора попали фундаментальные проблемы, находящиеся на стыке клеточной биологии и материаловедения. Следует отметить, что исследуемая область характеризуется практической направленностью, в частности, получаемые данные могут и должны быть использованы при разработке медицинских изделий – костнопластических материалов. Последние, как справедливо замечает автор исследования, часто являются необходимым элементом костнопластических реконструкций, нуждаемость в которых возрастает как в связи с увеличением общей продолжительностью жизни (остеопороз, остеопоротические вколоченные переломы, приводящие к формированию дефектов костей), так и с особой актуализацией проблемы т.н. высокоэнергетической травмы, часто сопровождающейся образованием первичных и вторичных дефектов костей.

Содержание и структура диссертационной работы.

Диссертация построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, заключения, выводов и списка литературы. Работа занимает 153 страницы, содержит 45 рисунков и 4 таблицы. Список литературы включает 324 источника, из которых лишь три принадлежат перу отечественных авторов.

Во *введении* В.В. Минайчев вводит читателя в курс проблематики костной патологии, клинических запросов в костно-пластических материалах, принципиальных подходах к созданию кальций-фосфатных соединений.

Цель исследования сформулирована широко; вместе с тем, задачи, предлагаемые к решению, действительно позволяют оценить явления

цитотоксичности и биосовместимости разработанных материалов в отношении клеток и тканей *in vitro* и *in vivo*.

Для введения читателя и коллег в проблематику исследования автором составлен обстоятельный *обзор литературы*. Он состоит из подразделов: структурно-функциональная организация костной ткани, строение внеклеточного матрикса костной ткани, Механизм минерализация костного матрикса, роль неколлагеновых белков, гликозаминогликанов и микроэлементов в организации и функционировании костной ткани, использование кальций-фосфатных соединений в качестве остеопластических материалов, биологические свойства и молекулярно-клеточные механизмы биоинтеграции и отторжения кальций-фосфатных материалов, влияние физико-химических свойств кальций-фосфатных материалов на их биологические свойства, современные подходы повышения биосовместимости и остеогенных свойств кальций-фосфатных биоматериалов. Даже для подготовленного читателя текст обзора представляет несомненный интерес и несет новизну. Так, автор в структуре остеобластического дифферона (терминология рецензента), ссылаясь на зарубежных авторов, выделяет новые клетки – «остеоморфы».

Обсуждая связь ангио- и остеогенеза, приведены сведения о «миоэндотелиоцитах», существование которых пока не подтверждено, в т.ч. цитируемой литературой. Автор постулирует дифференцировку эндотелиоцитов в остеобласты, что опрокидывает устоявшиеся универсальные представления о цито- и гистогенезе дефинитивных структур. В.В. Минайчев абсолютно точно указывает на значимость ангиогенеза для роста кости, но недооценивает спектр механизмов положительного влияния ангиогенеза на остеогенез, упуская из виду привнесение в область гистогенетических процессов (регенерация) полипотентных – в т.ч. остеогенных клеток периваскулярного микроокружения (вместо этого педантируя плохо доказанную в мировой литературе циркуляцию таких клеток в крови).

Методология исследования состоит в исследовании воздействия на различные живые клетки в условиях модельной системы *in vitro* и ткани гетеротопического реципиентного ложа *in vitro* факторов синтезированных кальций-фосфатных материалов.

Материалом послужили различные образцы кальций-фосфатных материалов в виде пасты и в виде порошка.

Примененные *методы* включают как классические морфологические подходы, а именно, флюоресцентная и световая микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, цито- и гистохимические исследования, микрокомпьютерная томография; так и дополнительные методы, существенно обогащающие исследовательский арсенал: рентгенфазовый и рентгенофлюоресцентный анализ, ИК-спектроскопия и др.

Собственные результаты В.В. Минайчев структурировал в одной главе (глава 3), которая разбита на исследование биосовместимости различных кальций-фосфатных паст и порошков. В первой части исследования В.В. Минайчеву удалось установить, что лишь некоторые из материалов не оказывают на клетки существенного негативного воздействия и могут быть рекомендованы для дальнейшей работы. Так, только для материалов (пасты), полученных при низкотемпературном синтезе установлены границы концентраций, при которых в модельных системах *in vitro* и *in vivo* не проявляются токсические свойства.

В дальнейшем показано, что допирование одной из разновидностей кальциевого фосфата – октакальциевого фосфата Sr^{2+} , оказывает даже цитопротекторное действие в *in vitro* и *in vivo* модельных системах. Что имеет несомненное практического значение. Вместе с тем, для достижения остеогенности (в терминологии автора диссертации) полученные фосфаты кальция, а именно дикальция дигидрат, было необходимо осаждать на деминерализованном костном матриксе с сохранённой ультраструктурой. Именно такая композиция по данным исследователя способствовала формированию *in vivo* в гетеротопическом тканевом ложе фокусов минерализации, что было расценено как проявление остеогенных свойств в связи с обнаружением признаков остеогенеза с наличием остеобластов на поверхности костных трабекул и их мозаичной повышенной минерализацией.

При выполнении работы В.В. Минайчев освоил и продемонстрировал блестящее самостоятельное владение широким спектром современных морфологических методов исследований; приобрел должную квалификацию в анализе выявленных научных данных.

Следует подчеркнуть, что автором в результате выполнения серии экспериментов получена совокупность данных, соответствующих целому ряду пунктов паспорта научной специальности 1.5.22 «клеточная биология», а именно: п. 10. Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, клеточной дифференцировки, физиологической и репаративной регенерации тканей, а также, регуляции этих процессов; п. 13. Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели; п. 14. Исследование адаптации клеток и тканей к действию различных факторов внешней среды.

Достоверность и новизна научных положений, результатов, выводов и рекомендаций.

О достоверности результатов исследования свидетельствуют рациональный дизайн экспериментов, применение поверенного научного оборудования, качественного программного обеспечения, а также современных методик реализации экспериментов *in vitro* и *in vivo*, включения в анализ достаточных по

объему выборок, соблюдения принципов надлежащей лабораторной практики, гистологической техники, морфометрии и статистической обработки данных. Причем, статистическая значимость полученных результатов подтверждена использованием репрезентативного и воспроизводимого материала с применением методов параметрической и непараметрической статистики.

Замечания и вопросы.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе В.В. Минайчева нет.

Вместе с тем, автору следует обратить внимание на ряд замечаний, большая часть из которых носит редакционный характер.

1. Работа содержит незначительное количество опечаток.

2. Имеется ряд терминологических (биосовместимость, остеокондукция, остеогенность, эктопия, гетеротопия) неточностей; впрочем, в начале диссертации приведена собственная оригинальная трактовка указанных понятий, в рамках которых и построено обсуждение данных.

В тексте имеются неудачные (жаргонные) выражения. В частности, от терминов «кислые компартменты» по отношению к некоторым клеточным органеллам, «специфическое воспаление» по отношению не к специфическому воспалению в гистологической (клеточно-биологической) работе следовало бы отказаться.

3. Обзор содержит избыточное количество рисунков, заимствованных из публикаций других авторов. Понятно желание диссертанта максимально наглядно представить сложные внутриклеточные, межклеточные и тканевые процессы, однако следовало бы ограничить их число объемом разумной необходимости и (или) заменить на собственные.

4. Вывезет недоумение библиографический список, представленный в работе; автор скрупулезно и увлечённо изучил более трехсот зарубежных статей и монографий, однако в приведенном в диссертации виде отечественная научная литература составляет в нем менее 1%. Сложно согласиться с тем, что диссертант исключил из собственного научного анализа работы школы профессора В.С. Акатова и И.С. Фадеевой – школы, в которой сам В.В. Минайчев формируется как ученый; исключены из анализа передовые отечественные разработки кальций-фосфатных материалов коллег-коллабораторов из НИИ ИМЕТ РАН им. А.А. Байкова и др.

5. В формулировке выводов и (или) положений, выносимых на защиту, следовало бы опираться на полученные автором достоверные статистические данные, которые приведены в разделах результаты и заключение.

6. В разделе «Материал и методы» в части касающейся работы с животными следует указать дату и номер решения локального этического комитета того или иного уровня, одобрявшего протокол исследования.

По прочтению диссертационной работы В.В. Минайчева возник ряд дискуссионных вопросов, которые представляется целесообразным обсудить с автором.

1. В обзоре литературы приведена относительно современная классификация резорбционных процессов в костной ткани, что, безусловно, имеет непосредственное отношение к цито- и гистофизиологическим процессам, происходящим на границе костнопластический материал – костная ткань; важно уточнить какие виды клеточно-опосредованной костной резорбции известны автору и удалось ли обратить на них внимание в ходе экспериментов *in vivo*.
2. Часть экспериментов *in vitro* выполнена в суспензионных культуральных условиях. Необходимо получить разъяснения о том, какие преимущества для оценки клеточных/внутриклеточных процессов дал этот раздел работ и удалось ли проследить особенности взаимодействия свободных/мигрирующих (блуждающих) клеток и кальций-фосфатных материалов *in vivo*?
3. В работе применен ряд тестов *in vitro*, выполненных на иммортализованных (частично трансформированных) клетках. Известно, что такие клетки характеризуются измененным метаболизмом и дыхательным обменом по сравнению с нормальными. Насколько данные по цитотоксичности, полученные в этой экспериментальной модели, могут быть по мнению автора применимы для объяснения процессов, выявляемых *in vivo*?
4. Автор вводит в аналитический аппарат особый коэффициент, а именно соотношение грануляционной и фиброзной тканей. Судя по всему, это важный параметр, характеризующий динамику гистогенетических процессов в зоне гетеротипической имплантации биосовместимых материалов. Важно уточнить: а) как автор на препаратах определял границы обеих тканевых образований, что пока еще остается не всегда легко решаемой задачей – обе они представляют собой реактивно измененную соединительную ткань; б) все же что в большей степени характеризует определяемый параметр – стадию раневого процесса или специфическую особенность взаимодействия конкретного кальций-фосфатного материала с тканями реципиентного ложа?
5. В следствии каких цито- и гистогенетических процессов по мнению автора на поверхности костных трабекул деминерализованного костного матрикса после его пропитывания дикальция дифосфатом появляются остеобласты в гетеротопическом тканевом ложе?

Заключение

Диссертационная работа Минайчева Владислава Валентиновича на тему: «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом» является законченной научно-квалификационной работой, имеющей большое научно-практическое значение для клеточной биологии в направлениях: создание клеточных моделей, изучение рецептор-опосредованной клеточной гибели, механизмы внутриклеточной сигнализации.

По своей актуальности, новизне, уровню проведенных исследований и практической значимости работа соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, отраженным в «Положении о присуждении ученых степеней» (п.п. 9-14, утверждено постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениям постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 № 650; от 20.03.2021 г. № 426), а ее автор, Минайчев Владислав Валентинович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – «Клеточная биология».

Первый заместитель директора НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»,
кандидат медицинских наук (03.00.25 -
Клеточная биология), доцент
117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3
Телефон: 8(499) 120-43-03
e-mail: romdey@gmail.com

«27» мая 2024 г.

Деев Роман Вадимович

Подпись к.м.н. Деева Р.В. заверяю.

«27» мая 2024 г.

Учёный секретарь
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»,
доктор медицинских наук
119991, Москва, ГСП-1,
Абрикосовский пер., д. 2
телефон: 8 (499) 246-88-57
e-mail: noc@med.ru



Михайлова Анна Андреевна

Сведения об официальном оппоненте

Деев Роман Вадимович

Ученая степень: кандидат медицинских наук (03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология; 14.00.22 – травматология и ортопедия).

Ученое звание: доцент.

Место работы: НИИ морфологии человека им. академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Должность: Первый заместитель директора.

Деев Р.В. специалист в области гистологии и патоморфологии, клеточной и молекулярной биологии, световой и конфокальной микроскопии, электронной микроскопии, иммунофлюоресцентного анализа, травматологии и ортопедии. Основные направления научной деятельности: исследование механизма действия генотерапевтических средств, включая генактивированные костнопластические материалы, изучение нормального и патологического остеогистогенеза.

Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет по теме диссертации:

1. Ткаченко А.Н., **Деев Р.В.**, Старчик Д.А., Хайдаров В.М., Уразовская И.Л., Мансуров Д.Ш., Семенцов К.В., Поликарпов А.В., Пресняков Е.В. К ВОПРОСУ ОБ ОБОСНОВАННОСТИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА ПРИ ОСТЕОАРТРИТЕ. Хирургия. Восточная Европа. 2023. Т. 12. № 2. С. 124-136.

2. Хоминец В.В., **Деев Р.В.**, Кудяшев А.Л., Комлев В.С., Михайлов С.В., Шакун Д.А., Комаров А.В., Фоос И.В., Щукин А.В., Бозо И.Я. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕН-АКТИВИРОВАННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ НЕСРАЩЕНИЯХ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ. Патент на изобретение RU 2764373 C1, 17.01.2022. Заявка № 2021108615 от 29.03.2021.

3. Хоминец В.В., **Деев Р.В.**, Кудяшев А.Л., Михайлов С.В., Шакун Д.А., Комаров А.В., Бозо И.Я., Щукин А.В., Фоос И.В. ПРИМЕНЕНИЕ ГЕН-АКТИВИРОВАННОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕСРАЩЕНИЯ БЕДРЕННОЙ КОСТИ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ. Травматология и ортопедия России. 2021. Т. 27. № 1. С. 66-74.

4. Дробышев А.Ю., Редько Н.А., Свиридов Е.Г., **Деев Р.В.** ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ГРЕБНЯ ЧЕЛЮСТЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА. Травматология и ортопедия России. 2021. Т. 27. № 1. С. 9-18.

5. Воложин Г.А., Базилян Э.А., **Деев Р.В.**, Бозо И.Я., Пресняков Е.В. ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ

ИМПЛАНТАЦИИ БИОИНЖЕНЕРНОГО ОСТЕОЗАМЕЩАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ОКТАКАЛЬЦИЙФОСФАТА, АКТИВИРОВАННОГО ПЛАЗМИДНОЙ ДНК С ГЕНОМ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА. *Эндодонтия Today*. 2021. Т. 19. № 4. С. 343-349.

6. Подлужный П.С., Пресняков Е.В., Жемков Н.И., Сорочану И., **Деев Р.В.** РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ КОСТЕЙ. *Гены и Клетки*. 2021. Т. 16. № 4. С. 50-54.

7. Bozo I.Y., Drobyshev A.Y., Redko N.A., Komlev V.S., Isaev A.A., **Deev R.V.** BRINGING A GENE-ACTIVATED BONE SUBSTITUTE INTO CLINICAL PRACTICE: FROM BENCH TO BEDSIDE. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021. Т. 9. С. 599300.

8. Wilkinson P., Braxton T., Feichtinger G.A., Bozo I.Y., Just P., Jones E., **Deev R.V.**, Giannoudis P.V. SYSTEMATIC REVIEW OF THE PRECLINICAL TECHNOLOGY READINESS OF ORTHOPEDIC GENE THERAPY AND OUTLOOK FOR CLINICAL TRANSLATION. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021. Т. 9. С. 626315.

9. Smirnov I.V., Fedotov A.Y., Egorov A.A., Komlev V.S., **Deev R.V.**, Bozo I.I., Gurin A.N., Mamonov V.E., Kravchuk A.D., Popov V.K. OCTACALCIUM PHOSPHATE COATING FOR 3D PRINTED CRANIOPLASTIC POROUS TITANIUM IMPLANTS. *Surface and Coatings Technology*. 2020. Т. 383. С. 125192.

10. Редько Н.А., Дробышев А.Ю., **Деев Р.В.** РЕГЕНЕРАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ В ЛУНКАХ УДАЛЕННЫХ ЗУБОВ ПОСЛЕ ИХ ЗАПОЛНЕНИЯ АУТОГЕННЫМ ДЕНТИНОМ. *Гены и Клетки*. 2020. Т. 15. № 3. С. 114-119.

11. **Деев Р.В.**, Подлужный П.С., Гальков С.С., Чернораев А.В. ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПАНЦИРЯ МОЛОДЫХ ОСОБЕЙ *TRACHEMYS SCRIPTA*. *Гены и Клетки*. 2020. Т. 15. № 4. С. 66-69.

12. Пресняков Е.В., Бозо И.Я., Смирнов И.В., Комлев В.С., Попов В.К., Миронов А.В., **Деев Р.В.** БИОРЕЗОРБЦИЯ И БИОДЕГРАДАЦИЯ ИЗДЕЛИЯ ИЗ ГЕН-АКТИВИРОВАННОГО ОКТАКАЛЬЦИЕВОГО ФОСФАТА, ИЗГОТОВЛЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРЕХМЕРНОЙ ПЕЧАТИ. *Гены и Клетки*. 2020. Т. 15. № 1. С. 66-70.

13. Bozo I.Y., **Deev R.V.**, Smirnov I.V., Fedotov A.Y., Komlev V.S., Popov V.K., Mironov A.V., Mironova O.A., Gerasimenko A.Y. 3D PRINTED GENE-ACTIVATED OCTACALCIUM PHOSPHATE IMPLANTS FOR LARGE BONE DEFECTS ENGINEERING. *International Journal of Bioprinting*. 2020. Т. 6. № 3. С. 93-109.

14. Komlev V.S., Bozo I.I., **Deev R.V.**, Gurin A.N. BIOACTIVITY AND EFFECT OF BONE FORMATION FOR OCTACALCIUM PHOSPHATE CERAMICS. В книге: *Octacalcium Phosphate Biomaterials: Understanding of Bioactive Properties and Application*. 2019. С. 85-119.

15. Zhuravleva M.N., Khaliullin M.R., Masgutov R.F., Rizvanov A.A., Bozo I.Y., **Deev R.V.** COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECT OF GENE-

ACTIVATED GRAFTS CARRYING A PBUD-VEGF165A-BMP2 PLASMID ON
BONE REGENERATION IN A RAT FEMUR DEFECT MODEL.
BioNanoScience. 2019. T. 9. № 4. С. 909-917.

Согласен выступить оппонентом диссертации Минайчева Владислава Валентиновича «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

«16» апреля 2024 г.

к.м.н., доцент, первый заместитель директора НИИ
морфологии человека
им. академика А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. акад.
Б.В. Петровского»
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3
телефон: +7-981-818-98-60
e-mail: deev.rv@med.ru



/Деев Р.В./

Подпись к.м.н., доцента Деева Р.В. заверяю.
«16» апреля 2024 г.

Учёный секретарь
ФГБНУ «РНЦХ им. акад.
Б.В. Петровского»
(ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»)
телефон: +7 499 246-88-57
e-mail: noc@med.ru



/Михайлова А.А./

Председателю совета по защите
диссертаций на соискание ученой
степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук

Я, Деев Роман Вадимович, доцент, кандидат медицинских наук, первый заместитель директора НИИ морфологии человека им. академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. академика Б.В. Петровского», сообщаю о согласии выступить в качестве оппонента по диссертации Минайчева Владислава Валентиновича на тему: «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – «Клеточная биология».

Согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело и дальнейшую их обработку, необходимую на основании нормативных документов Правительства, Минобрнауки и ВАК, на размещение их в сети Интернет на сайте ФИЦ ПНЦБИ РАН, на сайтах ВАК, в Единой информационной системе.

Не являюсь членом экспертного совета ВАК.

«16» апреля 2024 г.

к.м.н., доцент, первый заместитель
директора НИИ морфологии человека им.
академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ
им. акад. Б.В. Петровского»
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3
телефон: +7-981-818-98-60
e-mail: deev.rv@med.ru

/Деев Р.В./

Подпись к.м.н., доцента Деева Р.В. заверяю.

«16» апреля 2024 г.

Учёный секретарь
ФГБНУ «РНИЦХ им. акад.
Б.В. Петровского»
(ФГБНУ «РНИЦХ им. акад. Б.В. Петровского»)
телефон: +7 499 246-88-57
e-mail: noc@med.ru

/Михайлова А.А./

