

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

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

Актуальность избранной темы

Ограниченный регенеративный потенциал костной ткани приводит к необходимости применения различных имплантатов, способных инициировать процессы регенерации в области дефекта. Среди них наиболее широко распространены синтетические вещества на основе кальций-фосфатных соединений (КФС) благодаря простоте их получения, а также сходству с минеральным компонентом костной ткани. Однако из-за недостатка знаний о влиянии физико-химических свойств этих соединений на их биологическую совместимость использование таких материалов приводит к противоречивым результатам – от регенерации костной ткани до отторжения импланта. Поэтому исследование биосовместимости КФС и разработка на его основе новых остеопластических материалов имеет важное значение как с научной, так и с практической точек зрения.

Известно, что материалы на основе кальций-фосфатов, подвергшихся высокотемпературному обжигу, биоинертны и не способны стимулировать процессы регенерации костной ткани. Один из подходов к увеличению биосовместимости кальций-фосфатных материалов заключается в их синтезе при более низких температурах, приближенных к физиологическим. Однако клеточные и тканевые аспекты биосовместимости таких материалов остаются малоизученными. Исследование биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом, является важной научной задачей необходимой для разработки новых терапевтически эффективных остеопластических материалов. Именно поэтому изучение различных аспектов биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом, которому посвящена работа Владислава Валентиновича Минайчева, является высоко актуальной задачей.

Содержание и структура диссертационной работы

Диссертационная работа Минайчева В. В. построена по стандартной схеме, и содержит все необходимые разделы: обзор литературы, материалы и методы исследования,

описание результатов исследования и их обсуждение, выводы и список цитированной литературы.

Работа изложена на 153 страницах, содержит 45 рисунков и 4 таблицы; список использованной литературы включает 324 источника, из которых 3 в российских научных журналах и книгах. Следует отметить довольно большое число новых работ (после 2020 г.) в цитируемой научной литературе. Рисунки оформлены на высоком уровне – фотографии представлены в хорошем качестве с информативными подписями и обозначениями, диаграммы и графики построены в профессиональных программах и в едином выдержанном стиле, принятом в высокорейтинговых журналах.

В своей работе в качестве основной цели соискатель ставит исследование клеточных и тканевых аспектов биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом. Для достижения поставленной цели им были выдвинуты 4 задачи, которые были успешно решены в ходе проведения исследования, что отражается в выводах.

Обзор литературы представлен тремя разделами, первый из которых рассматривает строению костной ткани на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, а также механизму ее минерализации. Во втором разделе рассматривается применение кальций-фосфатных соединений в качестве остеопластических материалов, а также молекулярно-клеточные механизмы их биоинтеграции и отторжения. В третьем разделе рассматривается влияние физико-химических характеристик КФС на их биологические свойства, а также рассмотрены современные подходы к повышению их биосовместимости. Следует отметить насыщенность обзора актуальной научной информацией по выбранной тематике, очень подробное и детальное описание основных научных проблем, в рамках которых проводились экспериментальные исследования в данной диссертационной работе. Такая высокая информативность обзора, его значительный объем (57 стр. и 9 рисунков) позволяет погрузиться в тему диссертационной работы, а также оценить, насколько высоко перспективным является это исследование, как и высокий уровень компетенции соискателя.

В разделе "Материалы и методы" содержится детальное описание клеточных культур, животных, а также методов, использованных при проведении экспериментов. Кроме того, представлена подробная информация о получении исследуемых кальций-фосфатных соединений и их физико-химических характеристиках. Следует отметить высокое разнообразие используемых в работе методов, что характеризует данную работу как ярко выраженное комплексное междисциплинарное исследование с использованием широкого спектра методов материаловедения, клеточной биологии, биохимии, гистологии, биофизики, но при этом в работе в каждой из этих научных областей были использованы

методы высокого технологического уровня и сложности. В работе использовались такие методы исследования как культивирование клеток, микроскопия (световая, конфокальная и флуоресцентная), проточная цитометрия, гетеротопическая имплантация, криотомия, окрашивание гистологических срезов, сканирующая электронная микроскопия, а также современных методов цифровой обработки микроскопических изображений и анализа данных. Для исследования физико-химических свойств кальций-фосфатных соединений использовали инфракрасную спектроскопию, рентгено-фазовый анализ, сканирующую электронную микроскопию, микрокомпьютерную томографию. Все вышеуказанные методы позволили выполнить работу на высоком экспериментальном уровне.

Исследование выстроено в единой логике: от сравнения биосовместимости пастообразных материалов, полученных при разных температурах синтеза, до отбора и модификации кальций-фосфатов с целью повышения их биосовместимости и придания им остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойств. Положения диссертации подкреплены полученными результатами.

Диссертация Минайчева В. В. оставляет благоприятное впечатление. Выводы, изложенные в работе, опираются на обширный экспериментальный материал, что подчеркивает качество исследования. Автореферат в полной мере и адекватно отражает суть содержания диссертации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертантом сформулированы 4 положения, выносимые на защиту, которые соответствуют 4 вывода. Выводы полностью соответствуют результатами работы. Обсуждение полученных результатов опирается на полученные экспериментальные данные.

Достоверность, новизна полученных результатов и их практическая значимость

Поскольку взаимодействие КФС с клетками и тканями играет ключевую роль, определяющую их биосовместимость, исследование этих процессов представляет собой актуальную и неоспоримо значимую задачу, заслуживающую внимания.

В работе впервые показано, что снижение содержания кристаллической фазы в пастообразном гидратированном гидроксиапатите, полученном низкотемпературным синтезом, качественно увеличивает его биосовместимость и способствует повышению остеокондуктивных свойств *in vivo*. Показано, что различные КФС, полученные

низкотемпературным способом, оказывают более выраженный цитотоксический эффект *in vitro* на клетки, зависимые от прикрепления, что, вероятно, связано с их способностью к адгезии к клеточной поверхности. При этом наименьший цитотоксический эффект *in vitro* и наибольшую биологическую безопасность *in vivo* среди исследованных кальций-фосфатов проявляется дикальций фосфат дигидрат. На примере октакальций фосфата показано, что замещение ионов кальция на стронций в кристаллической структуре снижает его цитотоксичность *in vitro* и увеличивает биологическую безопасность *in vivo*. Поскольку все исследованные кальций-фосфатные соединения не проявляли остеогенных свойств для их увеличения был предложен новый метод биомиметического осаждения дикальций фосфата дигидрата на ксеногенный деминерализованный костный матрикс. Полученные результаты свидетельствуют о том, что предложенный подход позволяет получать материал с выраженными остеогенным эффектом.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием статистических выборок с необходимым количеством наблюдений с использованием статистической обработки данных методами параметрической и непараметрической статистики. Величину наблюдаемых эффектов автор рассчитывал с использованием стандартизированной разницы средних (методы g Хэджеса).

Результаты, представленные в диссертационной работе, имеют большое значения для биомедицинского материаловедения. Полученные Минайчевым В.В. данные могут быть использованы для создания новых высокоэффективных остеопластических материалов как в виде материалов-наполнителей (крошка, гранулы, блоки), так и протезов различной формы.

Замечания и вопросы

При рассмотрении диссертационной работы возникли небольшие вопросы и замечания дискуссионного или технического характера:

1. Почему не использовались общепризнанные методы стерилизации, такие как стерилизация оксидом этилена, автоклавирование и др.?
2. В чем именно новизна наблюдаемого в работе явления гетеротопического остеогенеза реминерализованного ксеногенного костного матрикса?
3. Каков литературный источник определений в разделе «Термины и Определения»?
4. Модуль Юнга на стр. 18 выражен в каких-то не вполне понятных единицах.

Однако, сделанные замечания имеют дискуссионный характер и не умаляют научной ценности полученных данных и сделанных выводов, не снижают общего хорошего впечатления от диссертационной работы.

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 значения для разработки новых эффективных остеопластических материалов. 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 поставлений 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».

д. б. н., доцент кафедры биоинженерии
биологического факультета
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова»

119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

телефон: +74959306306


e-mail: ant_bonar@mail.ru

 /Бонарцев А. П./

Подпись д.б.н., доцента кафедры биоинженерии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» Бонарцева А.П. удостоверяю:

Заместитель декана биологического факультета
Московского государственного
университета имени М.В.Ломоносова



 /А.М. Рубцов/
23 мая 2024 г.

Сведения об официальном оппоненте

Бонарцев Антон Павлович

Ученая степень: доктор биологических наук (1.5.6 – биотехнология)

Ученое звание: б/зв

Место работы: ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»

Должность: доцент кафедры биоинженерии (биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова)

Бонарцев А. П. является специалистом в области микробиологического биосинтеза биосовместимых полимеров, поли-3-оксиалканоатов и альгинатов, разработки, создания и исследования медико-биологических свойств медицинских изделий и лекарственных форм на основе биоразлагаемых полимеров, регенерации тканей, тканевой инженерии, экспериментального моделирования опухолей, доставки лекарственных веществ, биомедицинских свойств магнитоактивных материалов. Основные направления научной деятельности: исследование контролируемого биосинтеза поли-3-оксиалканоатов и бактериальных альгинатов с заданным химическим строением; исследование физико-химических свойств, биodeградации и биосовместимости полиоксиалканоатов и бактериальных альгинатов, создание и исследование систем высвобождения низкомолекулярных лекарственных веществ и белков на основе нано- и микрочастиц из полиоксиалканоатов для онкологии, регенеративной медицины и ветеринарии; создание микропористых и микроволокнистых скаффолдов из полиоксиалканоатов, применение их в тканевой инженерии и исследование регенерации костной ткани при их использовании; разработка и изучение 3D-моделей опухолей с использованием полимерных конструкций; изучение влияния пьезоэлектрического эффекта, механотрансдукции и топографии поверхности магнитоактивных материалов на рост и дифференцировку стволовых и нейроноподобных клеток.

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

1. Voinova V.V., Zhuikov V.A., Zhuikova Y.V., Sorokina A.A., Makhina T.K., Bonarseva G.A., Shaitan K.V., Pryadko A.S., Chernozem R.V., Mukhortova Y.R., Shlapakova L.E., Surmenev R.A., Surmeneva M.A., **Bonartsev A.P.** ADHESION OF E. COLI AND L. FERMENTUM ON FILMS AND ELECTROSPUN FIBROUS SCAFFOLDS FROM COMPOSITES OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE) WITH MAGNETIC NANOPARTICLES IN A LOW-FREQUENCY MAGNETIC FIELD. International Journal of Molecular Sciences. 2024. T.25. №1. C.208.

2. Zharkova I.I., Volkov A.V., Muraev A.A., Makhina T.K., Voinova V.V., Ryabova V.M., Gazhva Y.V., Kashirina A.S., Kashina A.V., Bonartseva G.A., Zhuikov V.A., Shaitan K.V., Kirpichnikov M.P., Ivanov S.Y., **Bonartsev A.P.** POLY(3-HYDROXYBUTYRATE) 3D-SCAFFOLD-CONDUIT FOR GUIDED TISSUE SPROUTING. International Journal of Molecular Sciences. 2023. T.24(8). C. 6965.

3. **Бонарцев А.П.**, Воинова В.В., Волков А.В., Мураев А.А., Бойко Е.М., Венедиктов А.А., Диденко Н.Н., Долгалев А.А. СКАФФОЛДЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА И ЕГО СОПОЛИМЕРОВ ДЛЯ ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ (ОБЗОР). Современные технологии в медицине. 2022. Т. 14. № 5. С. 78-91.

4. **Bonartsev A.P.**, Lei B., Kholina V.S., Menshikh K.A., Svyatoslavov D.S., Samoylova S.I., Sinelnikov M., Voinova V.V., Kirpichnikov M.P., Shaitan K.V., Reshetov I.V. MODELS OF HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA USING BIOENGINEERING APPROACHES. Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2022. T.180, C.103724.

5. Luo M., Shaitan K.V., Qua X., **Bonartsev A.P.**, Lei B. BIOACTIVE RARE EARTH-BASED INORGANIC-ORGANIC HYBRID BIOMATERIALS FOR WOUND HEALING AND REPAIR. Applied Materials Today. 2022. T. 26(34). C. 101304

6. Dudun A.A., Akoulina E.A., Zhuikov V.A., Makhina T.K., Voinova V.V., Belishev N.V., Khaydapova D.D., Shaitan K.V., Bonartseva G.A., **Bonartsev A.P.** COMPETITIVE BIOSYNTHESIS OF BACTERIAL ALGINATE USING AZOTOBACTER VINELANDII 12 FOR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS. Polymers (Basel). 2022. T.14. C.131.

7. Pryadko A.S., Mukhortova Y.R., Chernozem R.V., Pariy I., Alipkina S.I., Zharkova I.I., Dudun A.A., Zhuikov V.A., Moisenovich A.M., Bonartseva G.A., Voinova V.V., Chesnokova D.V., Ivanov A.A., Travnikova D.Y., Shaitan K.V., **Bonartsev A.P.**, Wagner D.V., Shlapakova L.E., Surmenev R.A., Surmeneva M.A. ELECTROSPUN MAGNETIC COMPOSITE POLY-3-HYDROXYBUTYRATE/MAGNETITE SCAFFOLDS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS: COMPOSITION, STRUCTURE, MAGNETIC PROPERTIES, AND BIOLOGICAL PERFORMANCE. ACS Appl. Bio Mater. 2022. T.5. №.8. C.3999–4019.

8. Zhuikov V.A., Akoulina E.A., Chesnokova D.V., Wenhao Y., Makhina T.K., Demyanova I.V., Zhuikova Y.V., Voinova V.V., Surmenev R.A., Surmeneva M.A., Bonartseva G.A., Shaitan K.V., Bonartsev A.P. THE GROWTH OF 3T3 FIBROBLASTS ON PHB, PLA AND PHB/PLA BLEND FILMS AT DIFFERENT STAGES OF THEIR BIODEGRADATION IN VITRO. **Polymers (Basel)**. 2021. T.13. C.108.

9. Акулина Е.А., Демьянова И.В., Жаркова И.И., Воинова В.В., Жуйков В.А., Хайдапова Д.Д., Чеснокова Д.В., Меньших К.А., Дудун А.А., Махина Т.К., Бонарцева Г.А., Волков А.В., Асфаров Т.Ф., Иванов С.Ю., Шайтан К.В., **Бонарцев А.П.** РОСТ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА МАТРИКСАХ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА, ЗАГРУЖЕННЫХ СИМВАСТАТИНОМ. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2021. № 1. С. 70-76.

10. Ивашкевич С.Г., Асфаров Т.Ф., **Бонарцев А.П.**, Гусейнов Н.А., Хоссаин Ш.Д. ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ И ОСТЕОИНДУКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИМВАСТАТИНА, ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА. Клиническая стоматология. 2021. № 1 (97). С. 66-74.

11. Ким Э.В., Петронюк Ю.С., Гусейнов Н.А., Терещук С.В., Попов А.А., Волков А.В., Горшенев В.Н., Ольхов А.А., Левин В.М., Дымников А.Б., Родионов В.Э., Туманян Г.А., Ивашкевич С.Г., **Бонарцев А.П.**, Бороздкин Л.Л. БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И СКОРОСТЬ РЕЗОРБЦИИ ТКАНЕВЫХ МЕМБРАН ИЗ ПОЛИЛАКТИДА И ПОЛИГЛИКОЛИДА, ИЗГОТОВЛЕННЫХ МЕТОДОМ 3D-ПЕЧАТИ. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 170. № 9. С. 352-356.

12. Volkov A.V., Muraev A.A., Zharkova I.I., Voinova V.V., Akoulina E.A., Zhuikov V.A., Khaydapova D.D., Chesnokova D.V., Menshikh K.A., Dudun A.A., Makhina T.K., Bonartseva G.A., Asfarov T.F., Stamboliev I.A., Gazhva Y.V., Ryabova V.M., Zlatev L.H., Ivanov S.Y., Shaitan K.V., **Bonartsev A.P.** POLY(3-HYDROXYBUTYRATE)/HYDROXYAPATITE/ALGINATE SCAFFOLDS SEEDED WITH MESENCHYMAL STEM CELLS ENHANCE THE REGENERATION OF CRITICAL-SIZED BONE DEFECT. Materials Science and Engineering: C. 2020. T.114. C.110991.

13. Zhuikov V.A., Zhuikova Y.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Rusakov A., Useinov A., Voinova V.V., Bonartseva G.A., Berlin A.A., **Bonartsev A.P.**, Iordanskii A.L. COMPARATIVE STRUCTURE-PROPERTY CHARACTERIZATION OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE)S FILMS UNDER HYDROLYTIC

AND ENZYMATIC DEGRADATION: FINDING A TRANSITION POINT IN 3-HYDROXYVALERATE CONTENT. Polymers (Basel). 2020. T.12(3). C.E728.

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.

д. б. н., доцент

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»

119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

телефон: +74959306306

e-mail: ant_bonar@mail.ru



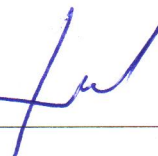
/Бонарцев А. П./

Подпись д.б.н., доцента биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» Бонарцева А.П. удостоверяю:

Заместитель декана биологического факультета

Московского государственного

университета имени М.В.Ломоносова



А.М. Рубцов

17 апреля 2024 г.

Председателю совета по защите
диссертаций на соискание ученой
степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук
24.1.232.01 на базе ФГБУН
«Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических
Исследований Российской академии наук»
чл.-корр. РАН Фесенко Е. Е.

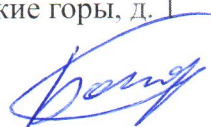
Я, Бонарцев Антон Павлович, доктор биологических наук, доцент ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», сообщаю о согласии выступить в качестве оппонента по диссертации Минайчева Владислава Валентиновича на тему: «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных 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.

д. б. н., доцент
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова»

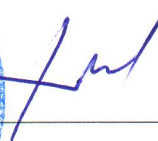
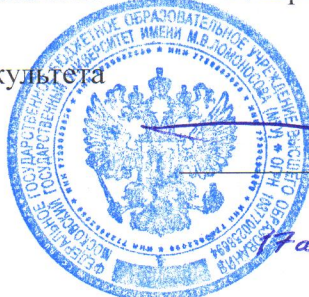
119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1
телефон: +74959306306
e-mail: ant_bonar@mail.ru



/Бонарцев А. П./

Подпись д.б.н., доцента биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» Бонарцева А.П. удостоверяю:

Заместитель декана биологического факультета
Московского государственного
университета имени М.В.Ломоносова



А.М. Рубцов

17 апреля 2024 г.