

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФГБУ «НИИЦ ТО им. Н.Н. Приорова»

Минздрава России

д.м.н., профессор РАН Назаренко А.Г.



« 3 » июня 20 24 года

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу МИНАЙЧЕВА Владислава Валентиновича «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. — Клеточная биология

#### Актуальность диссертационной темы

Диссертационная работа Минайчева В. В. посвящена изучению клеточных и тканевых аспектов биосовместимости кальций-фосфатных соединений (КФС), полученных низкотемпературным синтезом.

Проблема восстановления анатомической целостности и функции костной ткани после образования дефектов вследствие травм или заболеваний различной этиологии на сегодняшний день продолжает оставаться актуальной и ложится значимым экономическим бременем на системы здравоохранения всего мира.

Ежегодно проводится значительное количество хирургических операций, требующих использования материалов для заполнения дефектов кости. Используемые материалы должны быть доступны, просты в хранении, характеризоваться отсутствием пирогенных и иммуногенных свойств, а также обеспечивать органотипическую регенерацию костной ткани по возможности в короткие сроки и при полной или частичной биodeградации имплантатов. Материалы на основе синтетических КФС находят широкое применение. КФС-керамика имеет сходный неорганический состав с натуральной костью, поэтому широко используется в инженерии костной ткани для изготовления костно-замещающих материалов. Преимущества КФС перед другими видами материалов включают отсутствие иммуногенности, простоту и низкую стоимость синтеза, а также возможность создания имплантатов различного вида (гранулы, блоки, цементы и т. д.) и разнообразной формы. КФС-керамика широко используется для стимуляции регенерации кости из-за ее способности индуцировать остеогенез, при этом известно, что свойства поверхности, включая химический состав и ее структуру, играют решающую роль в остеокондукции и остеоиндукции. Сами по себе КФС обладают слабой остеоиндукцией; однако заметные остеоиндуктивные свойства могут быть приданы КФС-материалам с помощью поверхностной инженерии. Структура поверхности может инициировать и иммунный ответ. Механизм реакции, ответственный за образование кости, вызванной структурой поверхности КФС, еще не ясен, и понимание остеогенной дифференцировки, опосредованной структурой поверхности и остеоиммунотомодуляцией, может помочь в оптимизации биоматериалов на основе КФС для повышения эффективности регенерации кости.

Однако, несмотря на достигнутый прогресс в разработке различных КФС-материалов, продолжаются поиски новых подходов для повышения их биологической совместимости и эффективности применения для стимуляции костной регенерации. Большой интерес представляют методики комплексных



исследований материалов, предназначенных для заполнения дефектов кости на животных моделях.

Из ряда исследований известно, что кальций-фосфатные материалы, полученные с использованием высокотемпературного синтеза (свыше 1000 °C), не поддерживают эффективную регенерацию костной ткани. В связи с этим продолжается поиск новых подходов для улучшения свойств КФС-материалов. Свойства КФС-материалов зависят в том числе и от способов их получения. Известен подход к синтезу кальций-фосфатных материалов в условиях, приближенных к температуре тела ( $\leq 37$  °C). Предполагается, что получаемые при таких условиях материалы должны проявлять качественно иную биосовместимость и включаться в процессы ремоделирования костной ткани. Однако биосовместимость подобных материалов и влияющие на нее факторы остаются во многом неизученными. Исследование различных аспектов биосовместимости КФС, полученных при температурах около 37 °C, могут лечь в основу создания новых эффективных остеопластических материалов.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Минайчева В. В. по исследованию клеточных тканевых аспектов биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом, не вызывает сомнений.

### **Научная новизна работы и полученных результатов**

В работе впервые показано, что уменьшение содержания кристаллической фазы в пастообразном гидратированном гидроксиапатите, синтезированном при низкой температуре, увеличивает его биосовместимость в организме. Установлено, что наименьший цитотоксический эффект *in vitro* и наибольшую биологическую безопасность и остеокондуктивность *in vivo* среди исследованных кальций-фосфатных соединений проявляет дигидрат дикальций фосфата (ДКФД). Поскольку более выраженный цитотоксический эффект в условиях *in vitro* среди исследованных соединений был выявлен для

зависимых от прикрепления клеток, было выдвинуто предположение о возможной связи данного эффекта с неспецифической адгезией кальций-фосфатных соединений к клеточной поверхности. Показано, что введение ионов стронция в структуру октакальций фосфата приводит к снижению его цитотоксичности *in vitro* и повышению биологической безопасности, а также остеокондуктивности *in vivo*. Разработана технология низкотемпературного осаждения дигидрата дикальций фосфата на поверхность полностью деминерализованного костного матрикса и показаны остеогенные свойства полученного материала.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе Минайчева В. В., обусловлена большим объемом проведенной экспериментальной работы автором. Задачи исследования сформулированы логично в соответствии с поставленной целью.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современного оборудования, большого числа методов и необходимым количеством экспериментальных материалов. Для подтверждения статистической значимости полученных результатов в работе применялся обширный набор методов статистической обработки данных, включающий как параметрические, так и непараметрические критерии. По материалам диссертации опубликовано 20 научных работ: 8 статей в журналах, входящих в перечень ВАК РФ, Web of Science и Scopus, 11 тезисов докладов на научных конференциях всероссийского и международного уровней и 1 патент на изобретение РФ.

### **Значимость результатов для соответствующей области науки и рекомендации по использованию результатов и выводов**

Научная значимость результатов, представленных в диссертационной работе Минайчева В. В., заключается в выявлении более высокой биосовместимости КФС, полученных методом низкотемпературного синтеза,



по сравнению с соединениями, синтезированными при высоких температурах. Выдвинутые в диссертационной работе предположения и гипотезы могут быть учтены для дальнейших исследований материал-ассоциированной регенерации костной ткани и разработки новых высокоэффективных материалов для заполнения костных дефектов. Представленные данные о возможности повышения биосовместимости КФС как за счет технологии частичного катион-замещения ионов кальция на ионы стронция, так и за счет осаждения низкотемпературных прекурсоров гидроксиапатита на поверхность ДКМ с сохраненной ультраструктурой внеклеточного коллагенового матрикса могут найти дальнейшее применение в разработке новых материалов для травматологии и ортопедии.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа логично выстроена, грамотно написана и в полной мере соответствует требованиям ВАК по оформлению, изложению материала и объему, предъявляемым к структуре кандидатских диссертаций.

Диссертация изложена на 153 страницах, содержит 45 рисунков и 4 таблицы; список использованной литературы включает 324 источника. Структура диссертации включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, заключение, выводы, список использованной литературы, а также список сокращений и словарь используемых терминов и определений.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, поставлена цель исследования и сформулированы необходимые для ее достижения задачи, обозначены выносимые на защиту положения, отражена научная новизна и практическая значимость работы, а также описан личный вклад автора.

Первая глава диссертации посвящена обзору литературы, где рассматриваются современные представления о строении костной ткани, процессах ее биоминерализации, а также применяемых в современной клинической практике материалах на основе кальций-фосфатных соединений.

Также в данной главе освещаются клеточно-молекулярные механизмы биоинтеграции и отторжения кальций-фосфатных биоматериалов; рассмотрены современные подходы к модификации кальций-фосфатных соединений с целью повышения их биологической совместимости.

Во второй главе «Материалы и методы» подробно описаны используемые реактивы, приборы и методы исследования. Отдельно в данном разделе описаны методики получения исследованных кальций-фосфатных соединений и приведены их физико-химические характеристики. Методология диссертационного исследования включала междисциплинарный подход, объединяющий методы материаловедения, клеточной биологии, гистологии и биофизики, а также современные методы цифровой обработки микроскопических изображений и анализа данных.

В третьей главе «Результаты и обсуждения» логически выстроено описание полученных результатов исследования. Автор последовательно рассматривает аспекты биосовместимости различных кальций-фосфатных соединений и предлагает пути ее повышения. В каждом разделе главы проведен анализ полученных результатов и их интерпретация в соответствии с современными представлениями других исследователей в данной области.

В заключении соискатель обобщает полученные в ходе работы результаты. Выводы отражают основные положения диссертации, логически следуют из анализа экспериментальных данных и соответствуют поставленным цели и задачам.

В автореферате, изложенном на 24 страницах, отражено основное содержание диссертационного исследования. Полученные в работе результаты подкрепляются списком публикаций в российских и международных рецензируемых научных журналах.

Работа соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.22. – Клеточная биология, направлений исследования п. 10 (в части: изучение закономерностей физиологической и репаративной регенерации тканей), п. 22 (в части: разработка и применение новых экспериментальных моделей и



методов гистотехнологии, культивирования клеток, компьютерной морфометрии, цифрового анализа изображений, а также других методов, необходимых для проведения исследований в области клеточной биологии).

### **Вопросы, рекомендации и замечания**

В целом диссертационная работа написана на хорошем уровне, однако есть несколько вопросов и рекомендаций, которые заслуживают дальнейшего внимания.

1. В обзоре литературы практически не рассмотрен вопрос влияния температуры синтеза кальций-фосфатных материалов на их биологические свойства и структуру поверхности.

2. За счет чего повышаются остеокондуктивные свойства пастообразного гидратированного ГАп-материала, полученного путем низкотемпературного синтеза? Есть ли особенности влияния именно порошкообразной формы ГАп-материала на живые ткани и костную регенерацию?

3. В исследовании продемонстрировано, что деминерализованный костный матрикс не проявляет остеоиндуктивного эффекта. Это противоречит данным о том, что остеоиндуктивные свойства деминерализованных аллоимплантатов находятся в прямой зависимости от степени деминерализации костной ткани. Чем выше степень деминерализации костных имплантатов, тем более выражен эффект их влияния на пролиферативный клеточный потенциал кожных фибробластов и остеогенных стромальных клеток-предшественников в системе *in vitro*, а также на формирование эктопической кости. Как это объяснить?

4. Деминерализованный костный матрикс – деминерализованная костная ткань (природный материал) комбинируется с низкотемпературными предшественниками ГАп. Насколько обосновано относить такой продукт к биомиметическим материалам?

5. Диссертационная работа и автореферат содержат орфографические ошибки, опечатки и неточности.

Вместе с тем приведенные замечания не снижают научную и практическую значимость работы и не влияют на ее положительную оценку.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Минайчева Владислава Валентиновича на тему «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научной квалификационной работой, в которой рассмотрены основные особенности клеточного и тканевого ответа биологических систем на кальций-фосфатные соединения, полученные при физиологических температурах, а также пути повышения их биосовместимости.

Данное исследование имеет как значимое прикладное значение для разработки новых костно-замещающих и остеопластических материалов, так и фундаментальное значение для биологического материаловедения, раскрывающее особенности взаимодействия материалов с организмом и задающее дальнейшие направления для исследований в области тканевой инженерии костной ткани.

Диссертационная работа соответствует всем 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 с изменениям постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335; от 02.08.2016 № 748; от 29.05.2017 № 650; от 20.03.2021 № 426), а ее автор, Минайчев Владислав Валентинович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – «Клеточная биология».



Отзыв на диссертацию обсуждён и одобрен на внеочередном заседании кафедры травматологии, ортопедии и смежных дисциплин федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 1 от «29» мая 2024 г.).

Отзыв подготовил:

Заведующий Лабораторией клеточных технологий и медицинской генетики  
ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России

Кандидат медицинских наук Ковалев Алексей Вячеславович



Кандидатская диссертация защищена по специальности 14.00.23 – Гистология, цитология и эмбриология.

Подпись Ковалева А.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России

к.м.н. Леонова Ольга Николаевна



**Сведения о ведущей организации:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 127299 г. Москва

ул. Приорова 10

Тел. 8 (495) 450 45 11

e-mail: [cito@cito-priorov.ru](mailto:cito@cito-priorov.ru) Сайт: [www.cito-priorov.ru](http://www.cito-priorov.ru)

В диссертационный совет 24.1.232.01  
(Д 002.285.01), созданный на базе Федерального  
Государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
«Пущинский научный центр биологических  
Исследований Российской академии наук».

### Сведения о ведущей организации

по диссертационной работе МИНАЙЧЕВА Владислава Валентиновича «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России
Ведомственная принадлежность	Министерство здравоохранения Российской Федерации
Почтовый адрес, телефон, адрес электронной почты	127299, Москва, ул. Приорова 10 Телефон: 8 (495) 450 45 11 email: cito@cito-priorov.ru
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	<a href="https://www.cito-priorov.ru">https://www.cito-priorov.ru</a>
Телефон/факс	8 (495) 450 45 11
Руководитель организации	Назаренко Антон Герасимович доктор медицинских наук, профессор РАН директор
Лаборатории, кафедры или другие научные подразделения, деятельность которых связана с научным направлением диссертации	Лаборатория клеточных технологий и медицинской генетики Лаборатория разработки и испытания медицинских изделий и материалов

Список основных публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)

1. Lukina Y., Safronova T., Smolentsev D., Toshev O. Calcium phosphate cements as carriers of functional substances for the treatment of bone tissue. Materials. 2023. Т. 16. № 11. С. 4017.
2. Смоленцев Д.В., Лукина Ю.С., Бионьшев-Абрамов Л.Л., Сережникова Н.Б., Ковалев А.В., Берченко Г.Н. Определение эффективности протокола децеллюляризации ксеногенного костного матрикса в исследованиях in vitro и in vivo. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2023. Т. 30. № 4. С. 431-443.



3. Nifant'ev I.E., Tavgorkin A.N., Ryndyk M.P., Gavrilov D.E., Lukina Yu.S., Bionyshev-Abramov L.L., Serejnikova N.B., Smolentsev D.V., Ivchenko P.V. Crystalline micro-sized carbonated apatites: chemical anisotropy of the crystallite surfaces, biocompatibility, osteoconductivity, and osteoinductive effect enhanced by poly(ethylene phosphoric acid). ACS Applied Bio Materials. 2023. T. 6. № 11. С. 5067-5077.
4. Lukina Yu., Kotov S., Bionyshev-Abramov L., Serejnikova N., Chelmodeev R., Fadeev R., Toshev O., Tavgorkin A., Ryndyk M., Smolentsev D., Gavryushenko N., Sivkov S. Low-temperature magnesium calcium phosphate ceramics with adjustable resorption rate. Ceramics. 2023. T. 6. № 1. С. 168-194.
5. Safronova T., Kiselev A., Shatalova T., Filippov Y., Toshev O., Tikhonova S., Knotko A., Selezneva I.I., Lukina Y., Antonova O. Bioceramics based on  $\beta$ -calcium pyrophosphate. Materials. 2022. T. 15. № 9.
6. Ковалев А.В., Ильина В.К., Сморгчов М.М., Прохорова Е.В. In vivo модель для оценки регенеративного потенциала остеогенных клеточных сфероидов в составе сплошных пластинчатых тканевых конструкторов. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2023. Т. 25. № S. С. 163.
7. Ковалев А.В., Сморгчов М.М. Полиметилметакрилатный спейсер, формирующий биологическую камеру трубчатой формы для костных трансплантатов. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2023. Т. 25. № S. С. 164.
8. Kaimonov M., Safronova T., Shatalova T., Filippov Y., Tikhomirova I., Lukina Y. Composite ceramics based on pastes including tricalcium phosphate and an aqueous solution of sodium silicate. Journal of Composites Science. 2022. T. 6. № 9. С. 267.
9. Лукина Ю.С., Зайцев В.В., Эрхова Л.В., Крутько Д.П., Гаврюшенко Н.С., Леменовский Д.А. Макропористые кальцийфосфатные матриксы, полученные по технологии самосхватывающихся цементов. Неорганические материалы. 2021. Т. 57. № 1. С. 81-88.
10. Кречина Е.К., Волков А.В., Абдурахманова З.У. Обоснование применения биоактивных цементов для сохранения жизнеспособности пульпы при ее случайном вскрытии. Стоматология. 2021. Т. 100. № 1. С. 11-14.
11. Смоленцев Д.В., Овчинников Е.Н., Стогов М.В., Губин А.В., Воробьев К.А. Разработка костнозамещающих материалов с антимикробными свойствами для профилактики и лечения ортопедической инфекции. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2020. Т. 22. № S. С. 159-160.

#### Сведения о лице, составившем отзыв научной организации

Фамилия, имя, отчество	Ковалев Алексей Вячеславович
Ученая степень	Кандидат медицинских наук
Ученое звание	-
Отрасль науки, научная специальность/специальности, по которым защищена диссертация	14.00.23 – Гистология, цитология и эмбриология
Наименование организации, являющейся основным местом работы, должность	ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, заведующий Лабораторией клеточных технологий и медицинской генетики

Даем согласие на размещение данных на официальном сайте ФИЦ ПНЦБИ РАН и в единой информационной системе, включение персональных данных в аттестационное дело и их дальнейшую обработку.

ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н. Н. Приорова» Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор РАН

М.П.

«16» апреля 2024 года



«16» 04 2024 г. № 01/01227

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

Председателю диссертационного  
совета 24.1.232.01 (Д 002.285.01)  
при Федеральном  
исследовательском центре  
«Пущинский научный центр  
биологических исследований  
Российской академии наук»  
члену-корреспонденту РАН  
Фесенко Е. Е.

Уважаемый Евгений Евгеньевич!

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации выражает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертации Минайчева Владислава Валентиновича на тему «Клеточные и тканевые аспекты биосовместимости кальций-фосфатных соединений, полученных низкотемпературным синтезом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. – «Клеточная биология».

Приложение: сведения о ведущей организации на 3 стр. в 2 экз.

*С уважением,*  
Директор



А.Г. Назаренко