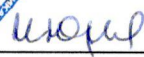


«УТВЕРЖДАЮ»
Руководитель ФГБУ
«Национальный медицинский
исследовательский центр
трансплантологии и искусственных
органов им. ак. В. И. Шумакова»
Минздрава России
академик РАН, д. м. н., профессор



 Готье С. В.

 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и
искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного
анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей» выполнена в
лаборатории бионанотехнологий федерального государственного
бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский
центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.
Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Агапова Ольга Игоревна работала в лаборатории бионанотехнологий федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности старшего научного сотрудника.

В 2011 году Агапова Ольга Игоревна окончила биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «антропология». С 2011 по 2014 г. обучалась в очной аспирантуре биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «антропология». С 2015 года работает в лаборатории бионанотехнологий федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В настоящее время занимает должность старшего научного сотрудника.

В 2015 году защитила диссертацию на тему: «Сканирующая зондовая нанотомография для исследования 3D структуры матриц для тканевой инженерии и регенеративной медицины» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы в диссертационном совете Д 208.055.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (диплом серии КНД № 017652).

Научный консультант: доктор биологических наук Ефимов Антон Евгеньевич - главный научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Работа выполнялась в рамках государственных заданий Министерства здравоохранения Российской Федерации на осуществление научных исследований и разработок по темам «Разработка технологии трехмерного нано- и микроструктурного анализа искусственных и нативных биологических объектов» (2015-2017 гг.), «Разработка технологии флуоресцентной сканирующей оптической-зондовой нанотомографии для высокоразрешающего корреляционного анализа структуры биоматериалов» (2018-2020 гг.) и «Разработка биodeградируемых изделий из натурального шелка для лечения раневых поверхностей и замещения дефектов ткани (LJPM-2024-0005)» (2024-2026 гг.).

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей», представленного на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы принято следующее заключение:

Диссертация Агаповой Ольги Игоревны на тему «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, представляет собой законченную самостоятельную научно-квалификационную работу, вносящую существенные вклад в решение проблемы, имеющей важное значение для трансплантологии, регенеративной медицины и тканевой инженерии – разработка методов исследования трехмерных наноструктур биополимерных и биологических объектов.

Соискателем лично сформулированы концепция, цели и задачи работы, разработаны технические решения аппаратного комплекса флуоресцентной оптической нанотомографии и алгоритм исследований биологических структур, выполнены экспериментальные исследования по определению трехмерных наноструктур биополимерных и биологических объектов различной природы, проведена систематизация и обобщение полученных результатов.

Достоверность и обоснованность научных положений и результатов работы определяется репрезентативным объемом проведенных экспериментальных исследований, использованием современных методов исследования и методов статистической обработки.

Научные положения, выводы и практические рекомендации объективно обоснованы, опираются на полученные результаты и согласуются с поставленными задачами и целью работы.

Научная новизна и практическая значимость работы: В ходе работы впервые разработан экспериментальный приборный комплекс для флуоресцентной оптической нанотомографии и методы исследования структуры биополимерных микро- и макроносителей, клеток и тканей на основе комбинации техник ультрамикротомии и флуоресцентной микроскопии, в том числе флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения. Доказано, что разработанная технология флуоресцентной оптической нанотомографии дает возможность повысить достоверность и разрешение структурных исследований тканей гиппокампа мыши и печени крысы и нервной ткани мыши. Впервые продемонстрирована эффективность разработанных методик оптической и зондовой нанотомографии для анализа внутриклеточного траффика цитостатика доксорубицина в клетках аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Разработана методика анализа взаимной колокализации наночастиц в оболочках полиэлектролитных микрокапсул, кодированных магнитными наночастицами и флуоресцентными нанокристаллами. Экспериментально продемонстрирован *in vivo* высокий регенеративный потенциал скаффолдов на основе фрагментов внеклеточного

матрикса печени, а также фиброина шелка и микрочастиц внеклеточного матрикса печени человека и проанализированы их наноструктурные особенности, влияющие на их биологические и функциональные свойства.

Практическая значимость работы связана с использованием ее результатов для решения задач анализа трехмерной ультраструктуры биоматериалов, биоискусственных конструкций и биологических объектов с наноразмерным разрешением. Полученные результаты позволяют рекомендовать скаффолды на основе фиброина шелка и микрочастиц внеклеточного матрикса печени человека для разработки новых продуктов для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Разработанные методы анализа распределений флуоресцентных и магнитных наночастиц в микрокапсулах могут применяться для контроля качества флуоресцентно- и магнитно кодированных микрокапсул в системах медицинской тераностики.

Ценность научной работы: Ценность диссертационной работы определяется универсальностью разработанной технологии флуоресцентной оптической нанотомографии, расширяющей возможности наномасштабного анализа трехмерной организации как тканевых и клеточных структур в норме и в патологии, так и биоинженерных конструкций, включающих искусственные микро- или макроносители. Дальнейшие исследования в данном направлении открывают перспективы разработки новых диагностических методов, подходов к анализу внутриклеточного траффика фармацевтических препаратов, создания новых бионанотехнологических инструментов для тераностики и эффективных биомедицинских продуктов для регенеративной медицины.

Диссертация соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, утвержденного приказом директора

от 12.02.2021 №70/8, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

Диссертация соответствует требованиям п. 20 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, утвержденного приказом директора от 12.02.2021 №70/8, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертация соответствует специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы.

Результаты диссертационного исследования внедрены в научную практику лаборатории бионанотехнологий, лаборатории биотехнических систем и отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Основные результаты диссертационной работы были широко представлены научной общественности на всероссийских и международных научных конференциях: 43 Конгрессе Европейского общества искусственных органов (ESAO), г. Варшава, Польша, 14-17 сентября 2016 г.; 45 Конгрессе ESAO, г. Мадрид, Испания, 12-15 сентября 2018 г.; IX Всероссийском съезде трансплантологов, Москва, Россия, 17-19 сентября 2018 г.; IV Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» 7–9 октября 2019 г.; X Всероссийском съезде трансплантологов (с международным участием), Москва, 2020 г.; V Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (с международным участием). Москва, Россия, 27-29 сентября 2021 г.; XI Все-российском съезде трансплантологов (с

международным участием). Москва, Россия, 21-23 сентября 2022 г. и VI Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (с международным участием). Москва, Россия, 25-27 сентября 2023 года.

По материалам диссертации опубликована 31 научная статья в рецензируемых журналах, индексируемых в международных наукометрических базах (Scopus, Web of science, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), из них 17 опубликованы в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук. Получено 10 патентов РФ на изобретение.

Статьи по теме диссертации, опубликованные в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, и в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах и (Scopus, Web of science, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer):

1. Ультраструктурная 3D-микроскопия для биомедицины. Принципы, применение, перспективы / К. Е. Мочалов, Д. С. Коржов, А. В. Алтунина, О. И. Агапова, В. А. Олейников // Acta Naturae. – 2024. – Т. 16. – №1. – С. 14-29. doi 10.32607/actanaturae.27323.
2. Hydrogels Based on Recombinant Spidroin Stimulate Proliferation and Migration of Human Corneal Cells / O. I. Agapova, D. S. Ostrovsky, M. K. Khubetsova [et al.] // Doklady Biological Sciences. – 2023. – 513 (Suppl 1). – S41–S44. doi 10.1134/S0012496623600173.
3. Identification of Ultrastructural Details of the Astrocyte Process System in Nervous Tissue of the Brain Using Correlative Scanning Probe and Transmission Electron Microscopy / O. I. Agapova, A. E. Efimov, E. A. Obratsova [et al.] // Doklady Biological Sciences. – 2023. – 513 (Suppl 1). – S51–S54. doi 10.1134/S0012496623600185.

4. Исследование внутриклеточного распределения доксорубина в клетках аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 методом корреляционной сканирующей флуоресцентно-зондовой нанотомографии / О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, К. Е. Мочалов [и др.] // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2023. – Т. 509. – № 1. – С. 119-123. doi 10.31857/S2686738923700178.

5. Исследование распределения магнитных наночастиц в опухолевых тканях методом сканирующей магнитно-силовой нанотомографии / О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, К. Е. Мочалов [и др.] // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2022. – Т. 504. – № 1 – С. 219-222. doi 10.31857/S2686738922030027.

6. Scaffolds Based on Silk Fibroin with Decellularized Rat Liver Microparticles: Investigation of the Structure, Biological Properties and Regenerative Potential for Skin Wound Healing / M. Bobrova, L. Safonova, A. Efimov, A. Lyundup, N. Mozheiko, O. I. Agapova, I. I. Agapov // Pharmaceutics. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2313. doi:10.3390/pharmaceutics14112313.

7. Сканирующая оптически-зондовая нанотомография для исследования структуры биоматериалов и клеток / О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, Л. А. Сафонова [и др.] // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 500. – № 1. – С. 483-487. doi 10.31857/S2686738921050036.

8. The effect of biodegradable silk fibroin-based scaffolds containing glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) on the corneal regeneration process / N. A. Gavrilova, S. A. Borzenok, O. E. Tishchenko, M. B. Agammedov, D. S. Ostrovkiy, A. V. Revishchin, G. V. Pavlova, M. M. Bobrova, L. A. Safonova, A. E. Efimov, O. I. Agapova, I. I. Agapov // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – Vol. 185. – P. 264-276. doi 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.040.

9. Relation between micro- and nanostructure features and biological properties of the decellularized rat liver / M. M. Bobrova, L. A. Safonova, A. E. Efimov, I. M. Iljinsky, O. I. Agapova, I. I. Agapov // Biomedical Materials. – 2021. – Vol. 16. – № 4. – P. 045035. doi:10.1088/1748-605X/ac058b.

10. A Comparative Analysis of the Structure and Biological Properties of Films and Microfibrous Scaffolds Based on Silk Fibroin / L. Safonova, M. Bobrova, A. Efimov, A. Lyundup, O. I. Agapova, I. I. Agapov // *Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 13. – № 1561. doi 10.3390/pharmaceutics13101561.

11. Silk Fibroin/Spidroin Electrospun Scaffolds for Full-Thickness Skin Wound Healing in Rats / L. Safonova, M. Bobrova, A. Efimov, L. Davydova, T. Tenchurin, V. Bogush, O. I. Agapova, I. I. Agapov // *Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 13. – № 1704. doi 10.3390/pharmaceutics13111704

12. Способ модификации поверхности альгинатных микроносителей для улучшения их биологических свойств / Л. А. Сафонова, М. М. Боброва, А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, И. И. Агапов, С. В. Готье // *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. – 2021. – Т. 499. – № 1. – С. 301-303. doi 10.31857/S2686738921040211.

13. Nanoscale Correlation Analysis of the Morphological, Optical, and Magnetic Structure of Polymer Microspheres for Multiplex Diagnostics / K. E. Mochalov, A. N. Generalova, I. S. Vaskan, D. O. Solov'eva, V. A. Oleinikov, O. I. Agapova, I. I. Agapov, A. E. Efimov // *Technical Physics Letters*. – 2020. – Vol. 46. – № 3. – P. 224-227. doi 10.1134/S1063785020030128.

14. Исследование микро- и наноструктуры клеток печени, культивированных на биodeградируемых скаффолдах на основе фиброина шелка, методом сканирующей зондовой оптической нанотомографии / О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, Л. А. Сафонова [и др.] // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 115-122. doi 10.15825/1995-1191-2020-4-115-122.

15. Трехмерный анализ микро- и наноструктуры ткани легкого методом сканирующей зондовой нанотомографии / А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, Л. А. Сафонова, М. М. Боброва, И. И. Агапов // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 143-148. doi 10.15825/1995-1191-2020-3-143-148.

16. Биodeградируемые материалы на основе тканей из натурального шелка как перспективные скаффолды для тканевой инженерии и регенеративной медицины / Л. А. Сафонова, М. М. Боброва, А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, И. И. Агапов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 105-114. doi 10.15825/1995-1191-2020-4-105-114.

17. Микроносители в виде волокон из натурального шелка для культивирования клеток / М. М. Боброва, Л. А. Сафонова, А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, И. И. Агапов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 98-104. doi 10.15825/1995-1191-2020-4-98-104.

18. Controlling Charge Transfer from Quantum Dots to Polyelectrolyte Layers Extends Prospective Applications of Magneto-Optical Microcapsules / G. Nifontova, V. Krivenkov, M. Zvaigzne, P. Samokhvalov, I. Nabiev, A. E. Efimov, O. I. Agapova, I. I. Agapov, E. Korostylev, S. Zarubin, A. Karaulov, A. Sukhanova // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2020. – Vol. 12. – № 32. – P. 35882-35894. doi 10.1021/acsami.0c08715.

19. Bioimaging Tools Based on Polyelectrolyte Microcapsules Encoded with Fluorescent Semiconductor Nanoparticles: Design and Characterization of the Fluorescent Properties / G. Nifontova, A. E. Efimov, O. I. Agapova [et al.] // Nanoscale Research Letters. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – P. 29. doi 10.1186/s11671-019-2859-4.

20. 3D scanning probe nanotomography of tissue spheroid fibroblasts interacting with electrospun polyurethane scaffold / A. E. Efimov, O. I. Agapova, L. A. Safonova [et al.] // Express Polymer Letters. – 2019. – Vol. 13. – P. 632-641. doi 10.3144/expresspolymlett.2019.55.

21. Анализ пролиферативной активности клеток в микрочастицах, полученных из децеллюляризованной ткани печени и почки / М. М. Боброва, Л. А. Сафонова, О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, И. И. Агапов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 69-75. doi 10.15825/1995-1191-2018-4-69-75.

22. High resolution 3D microscopy study of cardiomyocytes on polymer scaffold nano-fibers reveals formation of unusual sheathed structure / V. Balashov, A. Efimov, O. Agapova [et al.] // Acta Biomaterialia. – 2018. – Vol. 68. – P. 214-222. doi 10.1016/j.actbio.2017.12.031.
23. Трехмерный анализ микро- и наноструктуры биоматериалов и клеток методом сканирующей зондовой крионанотомографии / А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, Л. А. Сафонова [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 19. – № 4. – С. 78-87. doi 10.15825/1995-1191-2017-4-78-87.
24. A novel design of a scanning probe microscope integrated with an ultramicrotome for serial block-face nanotomography / A. E. Efimov, I. I. Agapov, O. I. Agapova [et al.] // Review of Scientific Instruments. – 2017. – Vol. 88. – № 2. – P. 023701. doi 10.1063/1.4975202.
25. Биоинженерные конструкции на основе фиброина шелка и спидроина для регенеративной медицины и тканевой инженерии (обзор) / О. И. Агапова // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 2. – С. 190-206. doi 10.17691/stm2017.9.2.24.
26. Cryo scanning probe nanotomography study of the structure of alginate microcarriers / A. E. Efimov, O. I. Agapova, L. A. Safonova [et al.] // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7. – № 15. – P. 8808-8815. doi 10.1039/C6RA26516B.
27. New Silk Fibroin-Based Bioresorbable Microcarriers / A. Y. Arkhipova, M. C. Kotlyarova, S. G. Novichkova, M. M. Moisenovich, O. I. Agapova, I. I. Agapov, D. A. Kulikov, A. V. Kulikov, M. S. Drutskaya // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 160. – № 4. – P. 491-494. doi 10.1007/s10517-016-3204-x.
28. Scanning near-field optical nanotomography: a new method of multiparametric 3D investigation of nanostructural materials / A. E. Efimov, A. Yu. Bobrovsky, I. I. Agapov, O. I. Agapova, V. A. Oleinikov, I. R. Nabiev, K. E. Mochalov // Technical Physics Letters. – 2016. – Vol. 42. – № 2. – P. 171-174. doi 10.1134/S1063785016020231.

29. Наноструктурные особенности контактов фибробластов и двухмасштабного биосовместимого полиуретанового матрикса / А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, Л. А. Сафонова [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2016. – Т. 11. – № 11-12. – С. 116-119. EDN XDNIPH.

30. Зависимость биологических свойств скаффолдов из фиброина шелка и желатина от состава и технологии изготовления / А. И. Соколова, М. М. Боброва, Л. А. Сафонова, О. И. Агапова, М. М. Мойсенович, И.И. Агапов // Современные технологии в медицине. – 2016. – Т. 8. – № 3. – С. 6-15. doi 10.17691/stm2016.8.3.01.

31. Исследование микро- и наноструктуры микроволокнистого биосовместимого полиуретанового матрикса методом сканирующей зондовой нанотомографии / А. Е. Ефимов, О. И. Агапова, В. А. Парфенов [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2015. – Т. 10. – № 11-12. – С. 118-123. EDN: VBUACR.

Диссертационная работа «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей» Агаповой Ольги Игоревны рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы.

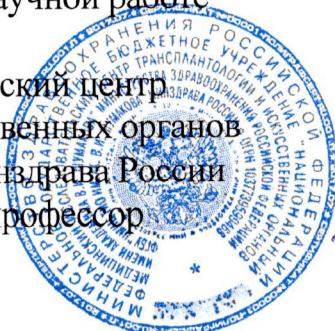
Заключение принято на заседании объединенной научной конференции клинических, экспериментальных отделений и лабораторий федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и кафедры трансплантологии и искусственных органов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Присутствовали на заседании 20 человек, из них с правом голоса – 18 человек, среди которых 9 докторов наук и 9 кандидатов наук.

Результаты голосования: «за» – 18 человек, «против» – нет, «воздержалось» – нет. Протокол № 10 от 24 июня 2024 года.

Председатель конференции

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр
трансплантологии и искусственных органов
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России
доктор медицинский наук, профессор



О.П. Шевченко

Секретарь конференции

Заведующая отделом мониторинга
и координации научных программ
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр
трансплантологии и искусственных органов
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
кандидат биологических наук

Е.А. Стаханова