

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. директора ИТЭБ РАН

д.ф.м.н. Чуев Г.Н.



2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук (ИТЭБ РАН)

Диссертация «Роль структурных повреждений внеклеточного матрикса в инициации асептического кальциноза химически стабилизированных биоматериалов на основе ксеноперикарда» выполнена в Лаборатории биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Звягина Алена Игоревна работала в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника Лаборатории биомедицинских технологий.

В 2016 году окончила естественно-научный факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет» по направлению подготовки «Биология». В 2018 году закончила магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Пущинский государственный естественно-научный институт на базе Учебного центра биофизики и биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук по направлению подготовки «Биология». С 2018 по 2022 год обучалась в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук по направлению подготовки «Биологические науки».

С 2016 года Звягина А.И. работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (с 2016 по 2021 год в Лаборатории тканевой инженерии в должности младшего научного сотрудника, с 2021 года по настоящее время в Лаборатории биомедицинских технологий в должности научного сотрудника).

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 476 выдана 02.05.2024 года в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Фадеева Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий Лабораторией биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, научная специальность 03.03.01 – Физиология.

Диссертационная работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования по теме научно-исследовательской работы: «Физико-химические основы биомедицины» (2019-2023 гг.), а также при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта №20-315-90101 «Выявление основных структурных и биофункциональных факторов внеклеточного матрикса биоматериалов, определяющих процессы направленной регенерации тканей» (2020-2022 гг.) и Совета по грантам Президента РФ в рамках проекта (стипендии) №СП-1813.2021.4 «Выявление ВКМ-ассоциированных факторов интеграции биоматериалов для реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии» (2021-2023 гг.).

На открытом межсекционном семинаре Секций Ученого совета «Биоэнергетика», «Биофармакология и биоинженерия» и «Биотехнология и биобезопасность» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук от 8 июля 2024 года по итогам рассмотрения диссертации Звягиной А.И. «Роль структурных повреждений внеклеточного матрикса в инициации асептического кальциноза химически стабилизированных биоматериалов на основе ксеноперикарда», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, принято следующее заключение:

Диссертация Звягиной А.И. является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, посвященной решению актуальной задачи по выявлению первопричин и механизмов развития патологического асептического кальциноза химически стабилизированных биоматериалов на основе ксеноперикарда, используемых в реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии.

Все результаты, представленные в диссертации, были получены соискателем лично. Автор непосредственно выступал инициатором и исполнителем планирования диссертационной работы, включая составление дизайна

экспериментов, постановку целей и задач, подбор методов проведения исследований, анализ российских и зарубежных источников литературы, а также проведения всего спектра исследований, представленных в работе. Автором лично проводились подбор протоколов изготовления химически стабилизированных ксеноперикардальных биоматериалов и получение экспериментальных образцов биоматериалов из бычьего перикарда, гистологический анализ и биоимиджинг повреждений внеклеточного матрикса изготовленных биоматериалов после обработки, *in vitro* исследования биобезопасности экспериментальных биоматериалов, а также *in vivo* и *in vitro* исследования склонности экспериментальных биоматериалов к асептическому кальцинозу, включая анестезию и проведение хирургических операций на лабораторных животных, дифференциальный гистохимический анализ, цифровой биоимиджинг полученных гистологических изображений, анализ полученных результатов и статистическая обработка данных.

Достоверность результатов диссертации обеспечена применением сертифицированного научного оборудования, современных методик исследований и репрезентативной выборки исследуемых материалов (12 экспериментальных групп материалов, полученных по протоколам, основанным на наиболее распространённых алгоритмах изготовления современных химически стабилизированных биоматериалов). В работе использован комплекс современных лабораторных и инструментальных методов исследования и анализа, в том числе методов оценки биологического действия медицинских изделий, утверждённых ГОСТ ISO 10993 в текущей редакции. Научные положения и выводы диссертации обоснованы, достоверны и целиком базируются на экспериментальных данных, полученных автором.

Научная новизна: В работе впервые показано, что интенсивность и скорость процессов активного и пассивного асептического кальциноза химически стабилизированных ксеноперикардальных биоматериалов напрямую коррелируют со степенью предимплантационных повреждений их внеклеточного матрикса. Разработан новый подход к квантификации предимплантационных

повреждений внеклеточного матрикса химически стабилизированных биоматериалов. Впервые изучено влияние степени сохранности внеклеточного матрикса стабилизированных биоматериалов на их токсическое воздействие, иммуногенность, а также на их пассивную кальцификацию, опосредованную неспецифической адсорбцией кальций-фосфатных соединений на комплексе альбумина и жирных кислот, осажденных на повреждённом матриксе.

Представлены новые методы матрикс-сберегающих предимплантационных обработок ксеноперикардальных биоматериалов, основанные на разработанной концепции максимального сохранения интактности внеклеточного матрикса и значительно повышающие устойчивость этих биоматериалов к активному и пассивному асептическому кальцинозу.

Практическая значимость: Проведенная работа может внести значительный вклад в развитие новых подходов получения кальциноз-резистентных долговечных биопротезов клапанов сердца и иных вспомогательных сердечно-сосудистых имплантатов, в основе которых используется принцип матрикс-сберегающего производства химически стабилизированных ксеноперикардальных биоматериалов.

Ценность научных работ соискателя: В научных работах автором представлен обзор литературы с анализом современных стратегий предимплантационной обработки и изготовления химически стабилизированных биоматериалов, используемых в сердечно-сосудистой хирургии, всесторонне раскрыта проблема кальциноза таких биоматериалов, а также имеющиеся на данный момент подходы повышения устойчивости этих биоматериалов к развитию асептического кальциноза. В публикациях представлены результаты оценки влияния степени предимплантационных повреждений внеклеточного матрикса химически стабилизированных ксеноперикардальных биоматериалов на их кальцинозрезистентность, а также эффективности разработанного матрикс-сберегающего метода предимплантационной обработки в создании устойчивых к кальцинозу химически стабилизированных ксеноперикардальных биоматериалов.

Содержание диссертации полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 года № 1382); п.17 «Положения 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, утвержденным Приказом директора от 12.02.2021 г. № 70/8, предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук.

Работа полностью соответствует требованиям, установленным пунктом 14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 года № 1382); п. 20 «Положения 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, утвержденным Приказом директора от 12.02.2021 г. № 70/8, предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертационная работа соответствует научной специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы.

Полученные данные внедрены в научно-исследовательскую практику лаборатории биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, а также в учебный процесс подготовки научных и научно-педагогических кадров аспирантуры Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем:

Основные положения материалов диссертации были представлены и обсуждены на следующих международных и российских конференциях: Научный форум «XXIII Съезд Российского физиологического общества им. И.П. Павлова» – 2017 год, Воронеж; Всероссийский конгресс молодых ученых-биологов, «Симбиоз – Россия-2017» – 2017 год, Казань; Всероссийский симпозиум «Биологическая подвижность» – 2019 год, Пушкино; Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» – 2019 год, Пушкино; Пушкинская конференция молодых ученых «Методы естественно-научных дисциплин» – 2019 год, Пушкино; Всероссийская конференция молодых ученых «Актуальные проблемы медицины – 2020» – 2020 год, Санкт-Петербург; Конференция «Экспериментальная и теоретическая биофизика» – 2021 год, Пушкино; Международная конференция «III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов» – 2021 год, Сочи.

По теме диссертационного исследования опубликовано 19 научных работ, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе 3 статьи опубликованы в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах, 1 статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Также по результатам работы опубликовано 15 тезисов в сборниках материалов конференций и получен Патент РФ на изобретение.

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ (в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах данных):

1. **Alyona I Zvyagina.** Soft Biomimetic Approach for the Development of Calcinosis-Resistant Glutaraldehyde-Fixed Biomaterials for Cardiovascular Surgery /

Vladislav V Minaychev, Margarita I Kobyakova, Yana V Lomovskaya, Anatoliy S Senotov, Kira V Pyatina, Vladimir S Akatov, Roman S Fadeev, Irina S Fadeeva. // Biomimetics (Basel). 2023 Aug 10;8(4):357. doi: 10.3390/biomimetics8040357;

2. **Звягина А.И.** Пассивный асептический кальциноз фиксированных перикардальных биоматериалов опосредован нарушениями структуры и микроархитектоники их внеклеточного матрикса / Даль А.И., Минайчев В.В., Краснова О.А., Акатов В.С., Фадеева И.С. // Биофизика 2022, 67(1): 160-167. ISSN 0006-3029 doi: 10.31857/S0006302922010173;

3. Фадеева И.С. Исследование биоинтеграции и прочностных свойств нового биоматериала, изготовленного из ксеногенного перикарда для реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии / Соркомов М.Н., **Звягина А.И.**, Бритиков Д.В., Сачков А.С., Евстратова Я.В., Фадеев Р.С., Муратов Р.М., Акатов В.С. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2019, №4, С.483-487 DOI: 10.1007/s10517-019-04558-1.

Патент на изобретение РФ:

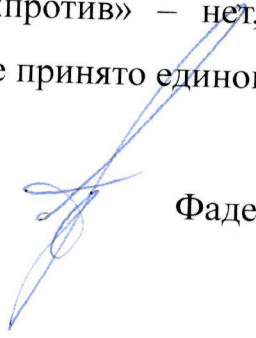
1. Фадеева И.С., Акатов В.С., **Звягина А.И.**, Фадеев Р.С., Соркомов М.Н., Сенотов А.С., Минайчев В.В. «Способ повышения биосовместимости перикардальных биоматериалов для реконструктивной хирургии». Патент РФ № 2678966 от 05.02.2019.

Диссертация «Роль структурных повреждений внеклеточного матрикса в инициации асептического кальциноза химически стабилизированных биоматериалов на основе ксеноперикарда» Звягиной Алены Игоревны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.14 – «трансплантология и искусственные органы».

Заключение принято на открытом семинаре Секций Ученого Совета «Биоэнергетика», «Биофармакология и биоинженерия» и «Биотехнология и биобезопасность» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

Присутствовало на заседании 35 членов секции Ученого совета, в том числе с правом голоса – 26 человек, из них докторов наук - 6, кандидатов наук - 20. Результаты голосования: «за» – 26, «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол №1 от 08.07.2024 года. Решение принято единогласно.

Председатель секции
«Биофармакология и биоинженерия»
к.б.н. заведующий лаборатории
Фармакологической регуляции
клеточной резистентности
142290, г. Пущино, Московская обл.,
ул. Институтская, д. 3.
Телефон: +7 (4967) 73-06-19
e-mail: fadeevrs@gmail.com



Фадеев Роман Сергеевич

Председатель секции
«Биоэнергетика»
в.н.с., к.б.н. лаборатории Тканевой
инженерии
142290, г. Пущино, Московская обл.,
ул. Институтская, д. 3.
Телефон: + 7 (4967) 739-216
e-mail: kruglovag@mail.ru



Круглов Алексей Георгиевич

Председатель секции
«Биотехнология и биобезопасность»
к.х.н. заведующий лаборатории
Наноструктур и нанотехнологий
142290, г. Пущино, Московская обл.,
ул. Институтская, д. 3.
Телефон: +7 (4967) 73-57-25
e-mail: yuri.shlyapnikov@gmail.com



Шляпников Юрий Михайлович

Подписи: Фадеева Р.С., Круглова А.Г., Шляпникова Ю.М. удостоверяю
Ученый секретарь ИТЭБ РАН,
кандидат биологических наук



Перевязова Т.А.