

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА ДСТИО 001.21,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И
ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17.12.2024 г. № 7

О присуждении Агаповой Ольге Игоревне, гражданке Российской Федерации, учёной степени доктора биологических наук.

Диссертация «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей» по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы принята к защите 16 сентября 2024 года, протокол № 6/к диссертационным советом ДСТИО 00121, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1.

Соискатель Агапова Ольга Игоревна, 1989 года рождения, в 2011 году окончила биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «антропология». С 2011 по 2014 гг. проходила обучение в аспирантуре биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «антропология».

В 2015 году защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Сканирующая зондовая нанотомография для исследования 3D структуры матриц для тканевой инженерии и регенеративной медицины» по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы в диссертационном совете Д 208.055.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 123182, г. Москва, Щукинская улица, дом 1 (диплом серия КНД №017652).

С 2014 года по настоящее время работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, с 2014 года в должности научного сотрудника, а с 2020 года по настоящее время - в должности старшего научного сотрудника лаборатории бионанотехнологий.

Диссертация 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.

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.

Официальные оппоненты:

Морозов Сергей Георгиевич – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»;

Шайтан Константин Вольдемарович – доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры биоинженерии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Манухов Илья Владимирович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики Центра исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)».

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), в своем **положительном отзыве**, подписанном **Луниным Владимиром Глебовичем**, доктором биологических наук, заведующим лабораторией биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, указала, что диссертационная работа Агаповой О.И. является актуальной для трансплантологии и искусственных органов. В диссертации представлено новое направление флуоресцентной оптической нанотомографии, основанное на создании уникального экспериментального

комплекса для трехмерного анализа распределения флуоресцентных маркеров в клетках, тканях и полимерных носителях. Одним из значительных достижений работы является объединение методов ультрамикротомии с флуоресцентной микроскопией полного внутреннего отражения, что позволяет выполнять послойный анализ образцов, а также проводить последовательный флуоресцентный анализ тончайших срезов непосредственно после их получения. Одной из ключевых характеристик предложенной технологии является ее высокая разрешающая способность (до 120 нанометров), что значительно улучшает качество трехмерной реконструкции. Новизна и эффективность предложенного подхода подтверждены в рамках нескольких биомедицинских исследований. Так, была подтверждена высокая точность метода флуоресцентной оптической нанотомографии при анализе трехмерной структуры тканей печени крысы и гиппокампа мыши. Кроме того, диссертация включает исследования, в которых впервые изучены трехмерные распределения доксорубина в клетках аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 с использованием коррелирующих методов, таких как флуоресцентная оптическая нанотомография и сканирующая зондовая нанотомография. Использование данных методов позволило получить новые сведения о наноструктуре оболочек полиэлектролитных микрокапсул, которые имеют значение для их функциональных характеристик. Работа также охватывает характеристики трехмерной наноструктуры макроносителей, созданных на основе децеллюляризированной ткани печени человека и скаффолдов на основе фиброина шелка, содержащих микрочастицы внеклеточного матрикса печени. В экспериментальных исследованиях *in vivo* было показано, что использование микрочастиц внеклеточного матрикса в скаффолдах на основе фиброина шелка способствует более быстрому заживлению полнослойных ран у крыс. Таким образом, результаты, полученные в ходе исследования, демонстрируют высокую научную новизну работы и их значимость для дальнейшего развития биомедицинских технологий и тканевой инженерии. Результаты, представленные в диссертационной работе, имеют значительную научную и

практическую ценность для задач регенеративной медицины и трансплантологии, способствуя как теоретическим исследованиям, так и разработке новых подходов к диагностике и терапии. Разработанный экспериментальный аппаратный комплекс и методика флуоресцентной нанотомографии обеспечивают возможность проведения глубокого и точного анализа трехмерных распределений флуоресцентных маркеров в клетках, тканях и различных биоинженерных конструкциях, что имеет широкие перспективы для применения в биомедицинских исследованиях. Эти методы не только увеличивают точность получаемых данных, но и открывают новые возможности для решения задач, связанных с изучением структуры и функционирования клеток. Методология трехмерного анализа, примененная к исследованиям тканей печени крысы и клеток нейронов гиппокампа мыши, демонстрирует как фундаментальную, так и прикладную значимость. Эти результаты могут быть использованы для решения актуальных задач в области структурной биологии и создания инновационных диагностических средств, направленных на выявление патологий на клеточном уровне. Метод, позволяющий изучать распределение доксорубина в клетках в контексте их ультраструктуры, значим для разработки новых фармацевтических препаратов и улучшения технологий целевой доставки. Кроме того, подход к оценке взаимодействия магнитных наночастиц и квантовых точек в полиэлектролитных микрокапсулах представляет интерес для повышения эффективности разработок в области тераностики и доставки лекарств. Исследование регенеративного потенциала скаффолдов на основе фиброина шелка, дополненных децеллюляризированной тканью печени человека, открывает возможности для создания новых биоматериалов, которые могут быть успешно использованы в клинической практике. Таким образом, работа Агаповой О.И. содержит результаты, которые могут быть эффективно внедрены в научные и практические области биомедицинских исследований.

Диссертационная работа Агаповой Ольги Игоревны на тему «Оптическая и зондовая нанотомография для структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей» является законченным самостоятельным научно-квалификационным исследованием, вносящим существенный вклад в решение актуальной научно-практической проблемы коррелятивного анализа трехмерных распределений флуоресцентных маркеров и наноструктурных особенностей в полимерных микро- и макроносителях, клетках и тканях. По своей актуальности, новизне, объему проведенного исследования, научно-практической значимости и методическому уровню диссертационная работа О.И.Агаповой полностью 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 и соответствует специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, а ее автор, Агапова Ольга Игоревна, достойна присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук.

Соискатель имеет 67 опубликованных научных работ, из них по теме диссертации – 31 статья, в том числе 17 статей – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук, 14 статей – в зарубежных журналах, индексируемых в международных наукометрических базах данных. Получено 10 патентов Российской Федерации на изобретения.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

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.

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.
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. Obraztsova [et al.] // Doklady Biological Sciences. – 2023. – 513 (Suppl 1). – S51–S54.
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.
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.
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.
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.
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. Ostrovskiy, 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.

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.

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.

Работы посвящены разработке экспериментального аппаратно-методического комплекса флуоресцентной оптической нанотомографии, которая позволяет анализировать с повышенной точностью и достоверностью трехмерные распределения флуоресцентных маркеров в клетках, тканях и различных биоинженерных конструкциях на основе биологических и полимерных материалов. Выполненный анализ регенеративного потенциала и особенностей трехмерной наноструктуры скаффолдов на основе фиброина шелка с микрочастицами децеллюляризированной ткани печени человека дает возможность рекомендовать данные материалы для доклинических исследований, направленных на создание на их основе изделий для регенеративной медицины. Все работы написаны автором в соавторстве, содержат подлинные и подтвержденные данные. Недостоверные сведения об опубликованных работах в диссертации отсутствуют. Объем работ по теме диссертации составляет 67,45 условных печатных листа. Личный вклад диссертанта в опубликованные работы заключается в постановке экспериментов, сборе, анализе, статистической обработке материала и непосредственном участии в написании статей.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

- доктора биологических наук, директора Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии Наук» (г. Москва), **Федорова Алексея Николаевича**;

- доктора медицинских наук, доцента, проректора по научной работе, декана медицинского факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Государственный университет просвещения» (г. Москва), **Куликова Дмитрия Александровича;**

- доктора медицинских наук, научного сотрудника отдела трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока Головной организации Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), **Паштаева Алексея Николаевича;**

- доктора биологических наук, заведующего лабораторией клеточно-тканевых механизмов компенсации функций биообъектов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН» (г. Пущино), **Куликова Александра Владимировича;**

- доктора биологических наук, профессора, главного научного сотрудника, заведующего лабораторией инженерии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (г. Москва), **Долгих Дмитрия Александровича;**

- члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии Института материнства и детства Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский университет) (г. Москва), **Румянцева Сергея Александровича.**

Отзывы подтверждают, что в результате выполненного исследования: разработан экспериментальный комплекс для флуоресцентной оптической нанотомографии и принципиально новая методология трехмерного анализа распределений флуоресцентных маркеров в клетках, тканях и полимерных микро- и макроносителях. Впервые продемонстрирована возможность объединения ультрамикротомии и флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения для послойного исследования поверхности образцов после срезов, а также возможность последовательного флуоресцентного анализа сверхтонких срезов образца *in situ* непосредственно после выполнения среза. Определяющей особенностью разработанной технологии флуоресцентной оптической нанотомографии является высокое разрешение трехмерной реконструкции по глубине. Эффективность и преимущества новой технологии впервые продемонстрированы на примере ряда выполненных биомедицинских исследований, обладающих самостоятельной значимостью и новизной. **Все отзывы положительные, принципиальных замечаний не содержат.**

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается следующим:

Морозов Сергей Георгиевич - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, имеет большой опыт научной и практической деятельности в области нейроиммунохимии, патофизиологии. Является автором значительного количества научных работ по указанной проблематике.

Шайтан Константин Вольдемарович – доктор физико-математических наук, профессор, является специалистом в области теоретической молекулярной биофизики, молекулярной динамики, фолдинга белка, химии биополимеров, имеет многолетний опыт научно-практической работы в области атомно-силовой микроскопии и регенеративной медицины. Является автором значительного количества научных работ по указанной проблематике.

Манухов Илья Владимирович – доктор биологических наук, имеет многолетний опыт научно-практической работы в области структурной

биологии. Является автором значительного количества научных работ по указанной проблематике.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации – один из крупнейших научных исследовательских центров Российской Федерации, проводящий работы в области бионанотехнологий, по анализу биологически активных наноструктур.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработана** новая научная концепция структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей, основанная на объединении возможностей ультрамикротомии, сканирующей зондовой микроскопии и флуоресцентной оптической микроскопии, что позволило повысить точность измерений наноструктурных особенностей биологических объектов и биоматериалов и расширить границы применимости полученных результатов;
- **предложены** нетрадиционные подходы к определению параметров трехмерных распределений флуоресцентных маркеров и препаратов в биосовместимых матриксах и полимерных макроносителях, применяемых в регенеративной медицине, а также во внутриклеточных структурах различных органов и тканей;
- **доказана** информативность и эффективность технологии флуоресцентной оптической нанотомографии для анализа структуры клеток, микро- и макроносителей, клеточно-инженерных конструкций и тканей солидных органов;
- **введены** оригинальные алгоритмы исследования наномасштабных структур биополимерных материалов и биологических объектов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказана** эффективность новой методологии трехмерного анализа тканевых структур на моделях ткани печени крысы и глиальных клеток

гиппокампа мыши, что может быть использовано для создания инновационных методов диагностики патологий трансплантированных органов и тканей;

- **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс функциональных, лабораторных и инструментальных методов исследования и наноанализа. Эффективно использованы методы статистического анализа;

- **изложены** доказательства определяющей роли взаимодействия магнитных наночастиц и квантовых точек в полиэлектролитных микрокапсулах в эффективности и надежности их использования в качестве нанобиоинженерных полимерных микроносителей;

- **изучена** связь регенеративного потенциала и особенностей трехмерной наноструктуры скаффолдов на основе фиброина шелка с включенными в состав микрочастицами децеллюляризированной ткани печени человека;

- **проведена модернизация** существующих методов структурного анализа микро- и макроносителей, клеток и тканей.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **разработана и внедрена** в практическую деятельность лаборатории бионанотехнологий, лаборатории биотехнических систем, отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России **новая технология флуоресцентной оптической нанотомографии при оценке ультраструктурных характеристик биополимеров, клеток и биоинженерных конструкций.**

- **определены** перспективы использования разработанной технологии флуоресцентной оптической нанотомографии при разработке биомедицинских изделий на основе биосовместимых полимеров;

- **создан** экспериментальный аппаратно-методический комплекс и система рекомендаций для исследований трехмерных распределений флуоресцентных маркеров в клетках, тканях и биоинженерных конструкциях;

- **представлены** методические рекомендации по использованию разработанных экспериментальных методов анализа микро- и наноструктур в регенеративной медицине и трансплантологии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных методик сбора и статистической обработки полученных данных, обоснованы калибровки;

- **теоретические основы** технологии флуоресцентной оптической нанотомографии, в том числе в режиме микроскопии полного внутреннего отражения, являются прямыми следствиями из полученных экспериментальных данных и согласуются с актуальными представлениями в этой области;

- **идея** изучения структур микро- и макроносителей, биоинженерных конструкций, клеток и тканей **обоснована** анализом возможностей разработанной технологии флуоресцентной оптической нанотомографии;

- **использовано** сравнение полученных данных с результатами, полученными по рассматриваемой проблематике зарубежными авторами;

- **установлено** качественное совпадение результатов настоящего исследования, с данными опубликованных крупных зарубежных исследований, посвященных исследованию регенеративного потенциала биомедицинских изделий из биodeградируемого шелка;

- **использованы** современные адекватные качественные и количественные статистические методы оценки данных, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений; объем исследования достаточен для получения детальной и объективной информации, необходимой для обоснования выводов и практических рекомендаций.

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном участии в разработке концепции, дизайна и постановке цели и задач исследования. Автор самостоятельно производил сбор материала для исследования, принимала участие в экспериментальных исследованиях микро- и макроносителей, клеток и тканей с использованием технологий сканирующей зондовой и оптической нанотомографии. Автором выполнено формирование базы данных, статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

На заседании 17 декабря 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Агаповой О.И. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного электронного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек: 15 человек – в зале и 3 человека – в интерактивном удаленном режиме, из них 17 докторов наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, в том числе 6 докторов биологических наук, участвующих в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» – 18 человек, «против» – нет, воздержавшихся – нет.

Председатель
диссертационного совета ДСТИО 001.21
академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор



Готье Сергей Владимирович

Ученый секретарь
диссертационного совета ДСТИО 001.21
кандидат ветеринарных наук

Волкова Елена Алексеевна

17.12.2024 г.