

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Балашова Виктора Андреевича

“Разработка биомиметических моделей сердечной ткани *in vitro*”,
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.02 - Биофизика

Актуальность темы исследования.

Тканевая инженерия - это мультидисциплинарная отрасль науки, использующая подходы биофизики, биохимии и науки о материалах для создания функциональных эквивалентов тканей, являющихся альтернативой пересадке органов и использованию протезов. Важное практическое значение имеет инженерия ткани миокарда, так как её повреждение связано с повышенным риском смерти у значительного количества людей.

Необходимым компонентом тканеинженерной конструкции являются клетки нужного типа. Но широко применяемые в биологии культуры клеток не являются полноценной тканью. На настоящий момент известно, что формирование ткани может задаваться физическим и химическим микроокружением отдельных клеток. Для контроля за их морфологией перспективной представляется биофизическая стимуляция, которая заключается в применении микротекстурированных субстратов, вариации их механических свойств и свойств их поверхности, приложения к тканевым конструкциям сил и их электрической стимуляции. Высокое понимание влияния этих факторов на клеточно-инженерные конструкции может помочь в воспроизведении натуральных структур тканей с наибольшей достижимой точностью.

Диссертационное исследование В.А. Балашова посвящено разработке полимерных матриц для контроля за архитектурой ткани. Эта направление является крайне актуальным и относится к наиболее горячим направлениям современной биологической науки.

Научная новизна и практическая значимость работы.

В представленной работе описаны новые результаты и предложены новаторские концепции. В ней были исследованы взаимодействия неонатальных кардиомиоцитов и фибробластов крысы с нановолоконными подложками. Культивация клеток на таких подложках сама по себе не является новой. Однако диссертанту удалось показать ранее неизвестный механизм обёртывания кардиомиоцитами нановолокон в описываемых условиях. Ведь ранее считалось, что адгезия сердечных миоцитов и фибробластов происходит

в виде распластывания по матриксу и описывается моделью фокальной адгезии. Также автор впервые показал, что волоконно-клеточные взаимодействия могут приводить к существенной пространственной реорганизации нановолоконных субстратов в трёхмерные тканеподобные структуры, которые можно использовать как модели сердечной ткани *in vitro*. Такие модели реагируют распространением волны возбуждения и сокращением на электрическую стимуляцию.

Весьма интересны результаты, касаемые определения оптимальных условий трансплантации культуры сердечных клеток на тканеинженерной модели миокарда. Диссертантом было выяснено, что прикрепление к подложке может повышать плотность контакта подсаживаемых клеток с окружающей тканью хозяина и значительно увеличивать эффективность образования электрической связи между ними. Для решения проблемы улучшения выживаемости имплантируемых клеток В.А. Балашовым был предложен и разработан новый тип наноносителей, представляющих из себя фрагменты полимерных волокон.

Также автором был разработан новый метод картирования волн возбуждения в сердечной ткани на основе преломления света эластичной мембраной. Важным достоинством этого метода является отказ от использования флуоресцентных красителей, способных оказывать влияние на результаты экспериментов, что особенно важно при долгосрочных исследованиях на культуре ткани.

Обоснованность выводов диссертации.

В работе сформулированы 5 положений, выносимых на защиту, и 5 выводов. Можно отметить обоснованность приводимых выводов, их соответствие задачам диссертации. Достоверность обеспечивается применением современных методов исследования и обработки данных. Результаты находятся в соответствии с известными на данный момент положениями науки, и не противоречат им. Они достаточно подробно изложены в рецензируемых изданиях и доложены на международных конференциях. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Рекомендации по использованию результатов.

Работа В.А. Балашова имеет несколько перспективных направлений для применения и развития. Проведённое исследование взаимодействия клеток сердечной культуры с нановолоконными матрицами важно для проектирования экспериментальных моделей миокарда, имитирующих его природную структуру и нужных для тестирования влияния биологически активных веществ. Метод картирования волн возбуждения на основе преломления света полимерной мембраной, имеющий достоинство в минимальном стороннем воздействии на экспериментальный образец, может быть также использован для испытания

действия лекарств на сердечную мышцу. Данные о волоконно-клеточных взаимодействиях должны дополнительно учитываться при разработке методов трансплантации клеточного материала в миокард, для обеспечения повышенной выживаемости и электрической интеграции клеток.

Краткая характеристика основного содержания диссертации.

Диссертационная работа В.А. Балашова посвящена развитию методов тканевой инженерии и разработке экспериментальных моделей ткани миокарда. В ней ставилась задача разработать технологию получения полимерных матриц, заселить их необходимым клеточным материалом и изучить взаимодействие всех элементов скаффолда, обеспечивающего необходимую функциональность разработанной конструкции. Работа имеет структуру, соответствующую установленным правилам ВАК. Она состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, результатов и заключения. Диссертация изложена на 174 страницах.

Во введении описаны цели и задачи работы, а также её актуальность и научная новизна. В литературном обзоре дано достаточно подробное описание современного состояния тканевой инженерии сердца. В материалах и методах детально описывается весь применённый широкий спектр методов исследования и обработки данных. Приведённой информации достаточно для повторения экспериментов при необходимости.

В разделе “Результаты” даётся описание полученных в ходе работы результатов. Этот раздел изложен на 80 страницах и занимает основную часть текста диссертации. После идёт заключение, в котором сформулированы выводы исследования. Работа проиллюстрирована 63 рисунками, высокое и профессиональное качество которых стоит отметить отдельно.

Замечания по работе.

При рассмотрении настоящей работы возникли следующие замечания и вопросы:

1. Подпись к рисунку 1.6 не соответствует содержанию рисунка. Также на рисунке много обозначений, не упомянутых в подписи.
2. Эксперименты по определению оптимальных условий имплантации кардиомиоцитов проведены только на культуре ткани. Для определения реальной практической значимости полученных результатов необходимо провести эксперименты *in vivo*.
3. На странице 98 и рисунке 2.9 диссертации представлен механизм улучшенной электрической интеграции клеток. Важно проверить, улучшат ли наноподложки электрическую связь инъектируемых клеток с окружающей тканью по описанному механизму?

4. Недостаточно чётко показаны преимущества безметочного метода картирования перед традиционным и хорошо изученным флуоресцентным. В работе проведено сравнение двух методов и получены схожие результаты. Преимущества одного метода перед другим экспериментально не доказаны.
5. Предлагаемый метод визуализации волн возбуждения регистрирует сокращение кардиомиоцитов, которое может пропадать под действием соответствующих ингибиторов при сохранении электрической активности клеток. Для исследования влияния таких веществ на распространение волн возбуждения предлагаемый метод применён быть не может.

Работа не лишена недостатков, но она представляет собой полноценное исследование и содержит обоснованные выводы. Упомянутые выше замечания не опровергают выводов работы и не являются препятствием для её защиты.

Заключение.

Диссертационная работа В.А. Балашова "Разработка биомиметических моделей сердечной ткани *in vitro*" представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует специальности 03.01.02 - биофизика и требованиям Положения "О порядке присуждения учёных степеней", предъявляемым ВАК к диссертационным работам на соискание учёных степеней кандидатов наук. Соискатель В.А. Балашов заслуживает присвоения ему степени кандидата биологических наук.

Официальный оппонент,

Профессор кафедры медицинской
и биологической физики с информатикой
и медицинской аппаратурой
ФГБОУ ВО «Казанский государственный
медицинский университет Минздрава России», д.б.н.



A handwritten signature in blue ink, appearing to be "С.Н. Гришин".

С.Н. Гришин

Подпись	<u>Гришина С.Н.</u>
	_____ заверяю.
Учёный секретарь Учёного Совета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, д.м.н. _____ И.Г. Мустафин	
« 03 » _____ 20 20 г.	

Сведения об официальном оппоненте

диссертационной работы Балашова Виктора Андреевича «Разработка биомиметических моделей сердечной ткани *in vitro*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Фамилия Имя Отчество	Гришин Сергей Николаевич
Ученая степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности	Доктор биологических наук (специальность 03.01.02 – биофизика)
Ученое звание	доцент
Место работы и занимаемая должность	Профессор кафедры медицинской и биологической физики с информатикой и медицинской аппаратурой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет Минздрава России»
Почтовый адрес учреждения	420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49
Адрес электронной почты	rector@kazangmu.ru
Телефон рабочий	+7 (843) 236-06-52

Научные публикации ведущего оппонента Гришина С.Н. по тематике диссертационного исследования Балашова В.А. за последние пять лет (2015-2020 гг.):

1. Ziganshin A.U., Khairullin A.E., Hoyle C.H.V., Grishin S.N. Modulatory Roles of ATP and Adenosine in Cholinergic Neuromuscular Transmission // International Journal of Molecular Sciences. 2020, 21, 6423.

2. Ziganshin A.U., Grishin S.N. Temperature-dependent effects of ATP on smooth and skeletal muscles В книге: Adenosine Triphosphate in Health and Disease.

Сер. "IntechOpen Book Series Physiology" Edited by Gyula Mozsik. London, 2019. С. 11-23.

3. Хайруллин А.Е., Еремеев А.А., Гришин С.Н. Синаптические аспекты гипогравитационного двигательного синдрома Биофизика. 2019. Т. 64. № 5. С. 1021-1029.

4. Ziganshin A.U., Khairullin A.E., Teplov A.Y., Gabdrakhmanov A.I., Ziganshina L.E., Hoyle C.H.V., Ziganshin B.A., Grishin S.N. The effects of ATP on the contractions of rat and mouse fast skeletal muscle Muscle and Nerve. 2019. Т. 59. № 4. С. 509-516.

5. Ziganshin A., Kamaliev R., Gabdrakhmanov A., Khairullin A., Grishin S. Foot-shock stimulation decreases the inhibitory action of ATP on contractility and end-plate current of frog sartorius muscle International Journal of Pharmacology. 2018. Т. 14. № 8. С. 1198-1202.

6. Ziganshin A.U., Khairullin A.E., Ziganshin B.A., Zobov V.V., Ziganshina L.E., Gabdrakhmanov A.I., Grishin S.N. Effects of atp and adenosine on contraction amplitude of rat soleus muscle at different temperatures / Muscle and Nerve. 2017. Т. 55. № 3. С. 417-423.

7. Grishin S.N., Gabdrakhmanov A.I., Khairullin A.E., Ziganshin A.U. The influence of glucocorticoids and catecholamines on the neuromuscular transmission / Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. 2017. V. 11, № 4, Pp. 253-260.

8. Khairullin A.E., Ziganshin A.U., Grishin S.N. Motor units at various temperatures / Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2017. V. 11. № 1.

9. Grishin S.N. Neuromuscular transmission in Ca²⁺-free extracellular solution. Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2016. V. 10 № 2, Pp. 99-108.

10. ЭшпайР.А., ХайруллинаА.Е., КаримоваР.Г., НуриеваЛ.Р., Ризванов, А.А., МухамедьяровМ.А., ЗиганшинаА.У., ГришинС.Н. Параметры одиночных и суммированных сокращений скелетных мышц in vivo и in vitro. Гены & Клетки. 2015. Т. X. № 4. С. 123-126.

11. Gabdrakhmanov A.I., Khayrullin A.E., Grishin S.N., Ziganshin A.U. ATP-induced changes in rat skeletal muscle contractility. International Journal of Risk and Safety in Medicine. 2015. V. 27. S82–S83.

12. Гришин С.Н., Зиганшин А.У. Котрансмиттерная модуляция мионевральной передачи в различных типах двигательных единиц. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2015. - 240 с.

13. Grishin S.N., Ziganshin A.U. Synaptic organization of tonic motor units in vertebrates. Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2015. V. 9. № 1. Pp. 13-20.