

## Заключение

**диссертационного совета ДСУ 208.001.01 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.**

аттестационное дело № 74.01-24/203-2020

решение диссертационного совета от 15 марта 2021 года № 6.

О присуждении Васютину Игорю Алексеевичу, гражданину России, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Изучение гистогенетической принадлежности клеток, выделенных из мочи, и перспективы их применения в тканевой инженерии» в виде рукописи по специальности 03.03.04. – Клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 18 января 2021 г., протокол № 1 диссертационным советом ДСУ 208.001.01 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ ректора Университета № 0463 от 28.05.2020г.).

Васютин Игорь Алексеевич 1989 года рождения в 2013 году окончил ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации г. Москва по специальности «медицинская кибернетика».

В 2016 году окончил очную аспирантуру в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

С 2020 года Васютин Игорь Алексеевич работает региональным медицинским советником ООО «Новартис Фарма», по настоящее время.

Диссертация «Изучение гистогенетической принадлежности клеток, выделенных из мочи, и перспективы их применения в тканевой инженерии» в виде рукописи по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология выполнена на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

**Научный руководитель:** кандидат медицинских наук, Люндуп Алексей Валерьевич, АО «Национальная инжиниринговая корпорация», департамент по направлению «Фармацевтическая отрасль», директор департамента.

**Научный консультант:** член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор, Кузнецов Сергей Львович ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, кафедра гистологии, цитологии, эмбриологии, заведующий кафедрой.

**Официальные оппоненты:**

- Баклаушев Владимир Павлович, доктор медицинских наук, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», заместитель генерального директора по научной работе и медицинским технологиям;
- Астрелина Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, доцент, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», Центр

биомедицинских технологий, руководитель Центра – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России г. Москва в своем положительном заключении, составленном членом-корр. РАН, доктором медицинских наук, профессором, Баниным Виктором Васильевичем - заведующим кафедрой морфологии человека, указала что, диссертационная работа Васютина Игоря Алексеевича на тему: «Изучение гистогенетической принадлежности клеток, выделенных из мочи, и перспективы их применения в тканевой инженерии», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, является законченным научно-квалифицированным трудом, содержащим решение важной научной задачи - определение гистогенетической принадлежности стволовых клеток, выделяемых из мочи, а также оценки возможности их применения в тканевой инженерии органов нижних мочевых путей. Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора Сеченовского Университета от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Васютин Игорь Алексеевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

На автореферат диссертации поступил отзыв от: доцента, заведующего кафедрой морфологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО

РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва – Сутягина Павла Валентиновича;

Отзыв положительный, критических замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются известными специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России г. Москва выбран в качестве ведущей организации в связи с тем, что одно из научных направлений, разрабатываемых данным учреждением, соответствует профилю представленной диссертации.

Соискатель имеет 6 опубликованных работ все по теме диссертации общим объемом 45 печатных листов, 5 статей в рецензируемых научных изданиях (в том числе, 5 статей, индексируемых в международной базе Scopus, Web of Science), 1 статья в материалах конгресса.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. **Васютин И.А.**, Кузнецов С.Л., Люндуп А.В. Стволовые клетки, выделенные из мочи: оценка потенциала дифференцировки в гладкомышечные клетки и клетки переходного эпителия. **Вестник РАМН**, 74(3), 2019, стр. 176-184.
2. **Vasyutin I**, Butnaru D, Lyundup A, Timashev PS, Vinarov A, Kuznetsov S, Atala A and Zhang YY. Frontiers in urethra regeneration: current state and future perspective. **Biomed Mater.** 2020 Jun 5

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

Проведена характеристика стволовых клеток, выделенных из мочи. Показано, что это клетки встречающиеся в крайне малых количествах в моче,

они способны к образованию культур *in vitro*, экспрессируют на своей поверхности маркеры мезенхимальных стромальных клеток и других видов стволовых клеток: CD73, CD90, CD105, CD29, CD44, CD54, SSEA4; не экспрессируют маркеры гематопоэтических стволовых клеток; имеют эпителиальный фенотип.

Впервые показано, что стволовые клетки, выделенные из мочи, представляют собой гетерогенную популяцию клеток, содержащую субпопуляцию клеток с фенотипом прогениторных клеток проксимальных канальцев нефрона, субпопуляцию клеток с фенотипом стволовых клеток париетального листка капсулы Шумлянско-Боумана и субпопуляцию клеток с фенотипом предшественников подоцитов.

Произведено получение и фенотипическая характеристика культур гладких миоцитов мочевого пузыря и клеток переходного эпителия. Показано, что гладкие миоциты мочевого пузыря в культуре имеют высокую экспрессию внутриклеточных маркеров  $\alpha$ SMA, кальпонина и десмина и умеренную экспрессию тяжелой цепи миозина, а клетки переходного эпителия имеют высокий уровень экспрессии внутриклеточных цитокератинов AE1/AE3, 7 и 13.

Разработан протокол дифференцировки стволовых клеток, выделенных из мочи, в гладкие миоциты посредством длительного содержания стволовых клеток из мочи в среде с факторами тромбоцитарного фактора роста-BB и трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1. Показано, что разработанный протокол дифференцировки приводит к статистически значимому увеличению экспрессии специфических маркеров гладких миоцитов.

Показано, что длительное содержание стволовых клеток, выделенных из мочи, в среде с высоким содержанием эпидермального фактора роста не приводит к дифференцировке в клетки переходного эпителия, что проявляется в отсутствии достоверного изменения экспрессии маркеров клеток уротелия цитокератинов AE1/AE3, 7 и 13.

Показано, что стволовые клетки, выделенные из мочи, выживают и пролиферируют на биоматериале на основе коллагена первого типа.

**Теоретическая и практическая значимость результатов исследования обоснована тем, что:**

Результаты данной работы позволяют предположить источник стволовых клеток, выделенных из мочи, в организме, а также описывают гистогенетическую принадлежность и фенотипическую гетерогенность стволовых клеток, выделенных из мочи. Полученные данные могут послужить фундаментом для дальнейших исследований стволовых клеток, выделенных из мочи, как объекта клеточных технологий, а также проливают свет на некоторые вопросы, касающиеся биологии и функции стволовых клеток мочевыделительной системы.

Отсутствие признаков дифференцировки стволовых клеток, выделенных из мочи, в клетки переходного эпителия под воздействием высокой концентрации EGF диктует необходимость пересмотреть данный подход при дальнейших исследованиях стволовых клеток, выделенных из мочи, как источника клеток переходного эпителия в тканевой инженерии нижних мочевыводящих путей. Между тем данные о гистогенетическом происхождении стволовых клеток, выделенных из мочи, и их способность к пролиферации на скаффолде на протяжении длительного времени говорят о перспективности данного типа клеток в тканевой инженерии.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

Степень достоверности результатов исследований определяется адекватными морфологическими, биохимическими методами исследования, корректными методами статистического анализа данных. Автор использовал проточную цитофлуориметрию для оценки экспрессии поверхностных маркеров и иммуноцитохимическое окрашивание с последующей флуоресцентной микроскопией для оценки экспрессии внутриклеточных маркеров. Важно отметить, что в каждом эксперименте использовался контроль для предупреждения ложноположительных результатов, что значительно

повышает достоверность полученных данных. Каждый эксперимент был повторен с несколькими клонами стволовых клеток из мочи, а данные представлены и обработаны с использованием подходящих статистических методов. Оценка уровня внутриклеточной экспрессии маркеров уротелия и гладких миоцитов осуществлялась с помощью компьютерного анализа микрофотографий культур клеток, а все приведенные на графиках количественные данные экспрессии подкреплены микрофотографиями флюоресцентной микроскопии.

**Личный вклад соискателя состоит в том, что** автором были проведены отработка протокола выделения стволовых клеток из мочи добровольцев, проточная цитометрия, серийное культивирование, выделение первичных культур клеток переходного эпителия и гладкомышечных клеток из кадаверного материала мочевого пузыря, иммуноцитохимические исследования, флюоресцентная микроскопия, а также оценка жизнеспособности культуры стволовых клеток из мочи на скаффолде. Статистический анализ полученных данных, описание и обсуждение результатов, оформление диссертации и автореферата выполнены автором самостоятельно. Автор принимал непосредственное участие в написании статей и тезисов и их подготовке к публикации в научных изданиях.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, присутствовавших на заседании, из них 7 докторов

наук по специальности рассматриваемой диссертации, из 25 человек, входящих в состав совета, утвержденного приказом ректора, проголосовали: за присуждение ученой степени - 19, против присуждения ученой степени - 1, недействительных бюллетеней - нет.

На заседании 15 марта 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Васютину Игорю Алексеевичу ученую степень кандидата медицинских наук.

Председатель  
диссертационного совета

Дыдыкин Сергей Сергеевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Блинова Екатерина Валериевна



«17» марта 2021 года