

ОТЗЫВ

Официального оппонента доктора медицинских наук Морозова В.В.
на диссертацию **Лыкова А.П.** на тему «**Морфофункциональная характеристика мезенхимных стволовых клеток костного мозга человека и крыс при активации эритропоэтином**», представленную на соискание ученой степени доктора наук по специальности **1.5.22.**

Клеточная биология

Актуальность темы исследования

Актуальность исследований представленной диссертационной работы не вызывает сомнений и определяется рядом положений.

Во-первых, диссертационное исследование посвящено одной из значимых фундаментальных задач в клеточной биологии - изучению морфофункциональных (экспрессии поверхностных мембранных молекул, рецепторов к эритропоэтину, пролиферативной, миграционной и секреторной активности) свойств мезенхимных стволовых клеток костного мозга, в том числе, в условиях их активации эритропоэтином, как биологического способа стимуляции потенциала клеток. Это имеет существенное значение для клеточной биологии, поскольку без знания и анализа этих аспектов невозможна дальнейшая разработка новых методов клеточной терапии, одного из приоритетных направлений современной регенеративной медицины.

Во-вторых, несмотря на достижения современной медицины, критическая ишемия конечностей и деструктивные процессы в пульпозном ядре межпозвонковых дисков продолжают оставаться сложной медико-социальной проблемой, которая, во многом, определяет структуру инвалидности и смертности во всем мире. Известно, что результаты хирургических способов лечения больных с ишемией конечностей и воспалительно-дегенеративным процессом в межпозвонковом диске имеют свое ограничение (высокий риск тромбирования синтетических или аутологических сосудов, нестабильность позвоночника и др.), что снижает

качество жизни пациентов и диктует необходимость разработки новых (альтернативных) технологий лечения.

В-третьих, накапливается все больше данных о кратковременности эффекта от использования стволовых/прогениторных клеток костного мозга, в том числе и мезенхимных стволовых клеток. Показано, что при введении стволовых/прогениторных клеток в патологический очаг в 90% случаев они погибают от неблагоприятного микроокружения (провоспалительный цитокиновый фон, окислительный стресс, гипоксия, дефицит питательных веществ и др.). Во всем мире ведется поиск способов надления стволовых/прогениторных клеток способностью противостоять этим факторам. Анализ научной литературы позволяет сделать заключение, что одним из перспективных способов надления мезенхимных стволовых клеток устойчивостью к неблагоприятным факторам микроокружения является биологический метод воздействия на клетки. Научные публикации свидетельствуют об эффективности эритропоэтина, но проблема требует дальнейшего углубленного изучения.

Таким образом, можно заключить, что цель и задачи представленной диссертационной работы являются актуальными и значимыми для науки и практического здравоохранения.

Степень обоснованности, новизна и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность изложенных в диссертационной работе научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений и подтверждена достаточным объемом изучаемого материала, четким представлением автором поставленных задач, последовательным и грамотным планированием этапов исследования, адекватных способах достижения поставленной цели и логичном решении сформулированных задач. Применяемые в исследовании морфологические методы исследования современны и полностью соответствуют поставленным задачам. Культуральные исследования проведены на высоком техническом уровне,

эксперименты на лабораторных исследованиях проведены с соблюдением принципов гуманности. В диссертационной работе использованы адекватные методы статистического анализа. Основные положения научной работы, выводы и практические рекомендации аргументированы, обоснованы и достоверно отражают суть проведенного исследования.

Убедительно показано, что под влиянием эритропоэтина на мезенхимных стволовых клетках человека меняется экспрессии рецептора к эритропоэтину и ко-экспрессии рецептора к эритропоэтину с общей бета цепью цитокинов, а также поверхностных мембранных молекул вовлеченных в процесс коммуникации с окружающими клетками (CD18, CD54, CD44, CD49a, CD146). Показано, что эритропоэтин способствует усилению устойчивости мезенхимных стволовых клеток человека и крыс к окислительному стрессу, гипо- и гипергликемии, дефициту питательных веществ - снижается доля клеток в апоптозе/некрозе, возрастает доля клеток в фазе покоя, повышается пролиферация, миграция и секреция клеток. Указано, что эритропоэтин способствует интенсификации синтеза белков в мезенхимных стволовых клетках человека (увеличение объемной плотности гранулярного эндоплазматического ретикулума), возрастание аутофагии (в 2,5 раза). Проведено сравнительное исследование влияния сочетанного введения мезенхимных стволовых клеток костного мозга и эритропоэтина на модели ишемии нижней задней конечности и дегенерации межпозвонкового диска хвостового отдела у крыс. При этом установлено, что клеточная технология способствует возрастанию параметров микроциркуляции в дистальном отделе стопы на стороне поражения кровоснабжения, выявлена разна направленность изменения уровня провоспалительных, противовоспалительных и ростовых факторов в сыворотке крови и мышцах голени. Клеточная технология на основе мезенхимных стволовых клеток и эритропоэтина значительно усиливала регенерации./репарацию пульпозного ядра межпозвонкового диска.

Таким образом, выявлены новые закономерности, получены новые знания в понимании фундаментальных аспектов влияния эритропоэтина на негемопоэтические клетки и возможности наделения их новыми функциональными свойствами.

Диссертационная работа изложена на 315 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, списка сокращений и приложения. Список литературы включает 68 отечественных и 437 зарубежных источников. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 29 таблиц и 42 рисунков.

Введение отвечает предъявляемым требованиям, содержит все необходимые разделы: кратко обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы», основана на анализе современных отечественных и зарубежных источников и включает все аспекты изучаемой темы. В обзоре представлены точки зрения и суждения различных авторов, грамотно используется современная литература, что свидетельствует об эрудиции автора и его способности к аналитической работе. Знание литературы позволило автору сформулировать цель и задачи собственного диссертационного исследования.

В главе «Материал и методы исследования» автор описывает источник получения мезенхимных стволовых клеток, способ получения первичной культуры клеток, фенотипирование, трансдифференцировку в другие типы соединительной ткани, способы оценки пролиферации и миграции, в том числе и в режиме реального времени, исследование секрета клеток, иммуногистохимическое исследование, моделирование ишемии нижней конечности и дегенерации межпозвонкового диска у крыс, патоморфологический анализ мышц голени и пульпозного ядра. Выбор

методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования.

Определив цель диссертационного исследования, в главах результатов собственных исследований автор последовательно описывает полученные в процессе работы данные, проводит их сравнительный анализ и сопоставления, делает обоснованные заключения.

В главе «Обсуждение собственных результатов исследования» на хорошем уровне проведен анализ полученных данных, что еще раз подтверждает эрудицию автора.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного диссертационного исследования.

Материалы диссертационной работы, основные положения и результаты диссертационного исследования доложены на различных конференциях и представлены в 27 опубликованных печатных работах, в том числе 1 свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ и 14 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий.

Автореферат написан в соответствии с требованиями ВАК РФ и в полном объеме отражает материалы диссертационной работы.

Имеются некоторые вопросы к Александру Петровича, на которые прошу ответить в порядке дискуссии:

1. В качестве источника эритропоэтина использован рекомбинантный эритропоэтин человека, он же использовался и для воздействия на мезенхимные стволовые клетки крыс. Насколько адекватно такое применение рчЭПО на грызунах?

2. Активация аутофагии в мезенхимных стволовых клетках в ответ на воздействие эритропоэтином может иметь отношение к трансформации клеток в злокачественном направлении?

3. Отмечались ли нежелательные эффекты использования мезенхимных стволовых клеток и эритропоэтина у крыс с ишемией конечности?

4. Чем обусловлен выбор исследования цитокинов в сыворотке крови и мышцах голени?

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Лыкова Александра Петровича «Морфофункциональная характеристика мезенхимных стволовых клеток костного мозга человека и крыс при активации эритропоэтином», выполненное при научном консультировании доктором медицинских наук О.В. Повещенко, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методическом уровне, в которой получен фактический материал и содержится решение важной и актуальной для клеточной биологии проблемы - изучены морфологические и функциональные свойства мезенхимных стволовых клеток костного мозга человека и крыс при активации эритропоэтином и их влияние на патологический процесс в мышцах голени при ишемии и в пульпозном ядре межпозвонкового диска при его дегенерации. Практическая значимость работы заключается в разработке новых фундаментальных подходов, способных лечь в основу создания методов лечения в комплексной терапии ишемий и дегенерации позвоночника.

По актуальности темы, комплексу современных подходов и новизне полученных результатов работа Лыкова А.П. соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 1.5.22. Клеточная биология

Официальный оппонент:

заведующий лабораторией технологий управления здоровьем
Института химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН, доктор медицинских наук, профессор

Морозов Виталий Валерьевич

05-10-2023

Иванов И.Е.



Подпись Морозов В.В.
Заведующий
лаб. др. технологий управления здоровьем

Дата: 05-10-2023 г

Адрес 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 8

Телефон: +7 (913) 915-81-07

e-mail: doctor.morozov@mail.ru