

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Лыкова Александра Петрович на диссертацию Олжаева Фархада Сайдикаримовича на тему «Морфофункциональные особенности репаративной регенерации костной ткани при использовании модифицированных мезенхимальных стволовых клеток», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Актуальность избранной темы

Диссертационное исследование Олжаева Ф.С. посвящено актуальной проблеме современной медицины и клеточной биологии - улучшению репаративной регенерации кости при переломах у возрастных лиц и остеопорозе с применением клеточных технологий. С увеличением продолжительности жизни населения возрастает риск низкоэнергетических переломов кости, а также риск возникновения возраст-ассоциированных заболеваний, в частности остеопороза.

Мезенхимные стволовые/стромальные клетки (МСК) костного мозга напрямую вовлечены в заживление кости, но с возрастом показано снижение количества этих клеток в костном мозге и их функциональной активности, включая пролиферацию, миграцию, секрецию активных молекул и мультипотентности, то есть дифференцировки в адипоциты, хондроциты, остециты, миоциты и др. клетки.

Это обстоятельство диктует поиск альтернативных источников получения МСК и способов их активации. Жировая ткань является в этом плане наиболее привлекательным источником получения МСК стромально-васкулярной фракции жира, а среди способов активации клеток перспективным считаются биологические методы стимулирования МСК. Бисфосфонаты могут быть использованы для остеогенной дифференцировки МСК, а воздействуя на белок Cdc42 можно стимулировать пролиферацию, миграцию и секрецию активных молекул.

Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В результате проведенного исследования автором получены новые данные, касающиеся особенностей морфофункциональных свойств МСК в ответ на стимуляцию синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером или ингибиторами белка Cdc42 и репаративной регенерации кости при лечении модифицированными МСК.

Впервые исследованы эффекты синтетического остеофильного бисфосфонатного полимера на жизнеспособность МСК и резорбтивную активность остеокластов.

Установлена способность синтетического остеофильного бисфосфонатного полимера усиливать адгезию МСК к кости, а ингибиторов белка Cdc42 подавлять внутриклеточную активность белка и влиять на экспрессию белка, то есть показан антисенесцентный потенциал молекулы малой интерферирующей РНК.

Показана способность ингибиторов белка Cdc42 - усиливать остеогенный и миграционный потенциал МСК возрастных крыс, а секретома МСК предобработанных малой интерферирующей РНК - снижать резорбтивный потенциал остеокластов.

Приоритетным являются результаты терапевтического эффекта МСК, активированных синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером или ингибиторами белка Cdc42 при заживление кости, а именно усиление минерализации кости, увеличение пула предшественников хондробластов/хондроцитов и остеобластов/остеоцитов в области перелома кости.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Значимость результатов проведенного исследования заключается в получении новых сведений об особенностях репаративной регенерации

кости в присутствие МСК модифицированных синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером или ингибиторами белка Cdc42.

К наиболее значимым, с моей точки зрения, результатам выполненной работы можно отнести: 1) факт снижение активности и экспрессии белка Cdc42 в ответ на малую интерферирующую РНК в МСК; 2) способность ингибиторов белка Cdc42 усиливать остеогенез и миграционный потенциал МСК от возрастных крыс и 3) способность синтетического остеофильного бисфосфонатного полимера и ингибиторов белка Cdc42 стимулировать минерализацию кости в месте перелома.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты исследования могут стать основой для дальнейшей разработки клеточной технологии использования МСК, модифицированных синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером или ингибиторами Cdc42 в травматологии и ортопедии, а также в педагогический процесс профильных кафедр медицинских высших учебных заведений при подготовке студентов и ординаторов, на курсах повышения квалификации врачей.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Изложенные в диссертационной работе научные положения, выводы и рекомендации обоснованы, не вызывают сомнений. Эксперименты проведены на достаточном количестве лабораторных животных (160 крыс Wistar разного пола и возраста). Качественно выполнена техническая составляющая исследования с использованием сертифицированного оборудования, современных методов исследования, таких как проточная цитофлуориметрия, магнитная сепарация клеток, иммуноферментативный анализ, культуральные методы исследований, экспериментальных моделей

патологии кости, гистологических исследований и статистического анализа данных, полностью соответствующих поставленным задачам. Положения научной работы, выводы и практические рекомендации аргументированы и отражают суть выполненного исследования.

**Личный вклад автора в разработку научной проблемы,
репрезентативность эмпирического материала**

Олжаев Фархад Сайдикаримович лично провёл разработку методологии исследования, экспериментальные исследования, статистический анализ полученных данных и подготовку статей к публикации.

Оценка структуры и содержания диссертации, ее завершенности

Диссертационная работа Олжаева Ф.С. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, а также имеет список иллюстративного материала. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 2 таблицами и 43 рисунками. Список литературы содержит 136 источника, включая электронные ресурсы, из них 13 отечественных и 123 зарубежных.

Во *Введении* отражена актуальность изучения морфофункциональных изменений репаративной регенерации костной ткани в ответ на лечение МСК, в том числе и при остеопорозе.

Успешное выполнение исследования стало возможным благодаря детальному анализу источников информации, изложенному в *обзоре литературы*, который охватывает вопросы современных представлений о механизмах травм костной ткани с учетом возрастного аспекта, терапевтическом эффекте бисфосфонатов, характеристики МСК и их использование в травматологии, роли белка Cdc42 в старении МСК.

В главе *материалы и методы* исследований подробно описаны объекты исследования, манипуляции, проводимые с животными, и соответствие их Хельсинской декларации, а также иммунологические, гистологические, функциональные, цитологические и культуральные методы исследования. Охарактеризованы методы статистической обработки полученных данных, с использованием пакета прикладных компьютерных программ, которые обуславливают статистическую значимость полученных в диссертационном исследовании результатов.

Полученные *результаты собственных исследований* полно отражены в таблицах и графиках, каждый из которых имеет необходимый комментарий. Обращает на себя внимание очень большой объем проведенных исследований, их детальный анализ и наличие компактных заключений в каждом подразделе главы 3, что облегчает восприятие информации. Достоверность полученных результатов обеспечивается адекватностью применяемых статистических методов, представлением микрофотограмм, а также широким освещением полученных результатов в рецензируемых изданиях.

В разделе *обсуждение полученных результатов* автор анализирует с привлечением источников литературы и оценивает соответствие полученных результатов литературным данным, что занимает 8 страниц текста. Эксперименты *in vitro* позволили установить, что обработка МСК синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером или ингибиторами белка Cdc42 способствуют прикреплению клеток к костной ткани, повышают пролиферативный, миграционный и дифференцировочный потенциал МСК. В экспериментах на животных показана эффективность обработки МСК крыс ингибиторами белка Cdc42, что выражалось в усилении минерализации костной ткани в области травмы. Полученные закономерности сформулированы в 7-ми выводах, которые логично вытекают из содержания работы, соответствуют ее цели

и задачам и отражены в основных положениях выполненного исследования.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Оформление автореферата отвечает установленным требованиям, а его содержание полностью соответствует содержанию диссертации и отражает ее основные разделы, положения и выводы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационного исследования Олжаева Ф.С. нет. На мой взгляд положения должны содержать только констатацию факта события/явления без его описательной части. Кроме этого, имеются ряд неудачных словосочетаний, названия генов, таксонов и слов на латыни даны не курсивом, что не влияет на суть диссертационного исследования.

По ходу анализа диссертационной работы Фархада Сайдикаримовича возник ряд вопросов, на которые прошу ответить в порядке дискуссии:

1) Есть ли вероятность формирования патологических переломов в месте применения МСК, нагруженных бисфосфонатами и насколько прочно связан полимер с МСК?

2) С какого пассажа Вы считаете, что первичная культура клеток МСК становится линией и нет ли противоречий в том, что Вы не достигли 100% чистоты популяции МСК?

3) С учетом неоднородности популяционного состава МСК, взятых для остеогенной дифференцировки и влияния на этот процесс ингибиторов белка Cdc42 - могли ли возникнуть эффекты подавления его активности в ГСК и ЭПК?

4) В вашей работе использованы клетки изначально селектированные по CD105. Чем обусловлен выбор селекции клеток

только по этому маркеру?

5) Вами показано, что обработка МСК не усиливает остеогенный потенциал клеток. Как Вы считаете, чем это обусловлено?

Заключение

Диссертационная работа Олжаева Фархада Сайдикаримовича на тему «Морфофункциональные особенности репаративной регенерации костной ткани при использовании модифицированных мезенхимальных стволовых клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной проблемы по выявлению закономерностей модулирующего влияния остеофильного бисфосфонатного полимера и ингибиторов белка Cdc42 на свойства и терапевтический потенциал мезенхимных стволовых клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани, что имеет важное значение для клеточной биологии.

Полученные автором научные результаты, положения и выводы, сформулированные в диссертации, являются оригинальными, достоверными и обоснованными, имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Принимая во внимание объем и сложность проведенных исследований, важность полученных результатов для науки и регенеративной медицины, наличие некоторых неточностей формулировок, не является препятствием для присуждения диссертанту искомой степени.

Представленная диссертационная работа Олжаева Фархада Сайдикаримовича соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Олжаев Фархад Сайдикаримович заслуживает присуждения ученой степени кандидата

медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Лыков Александр Петрович, доктор медицинских наук (1.5.22 - Клеточная биология), ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук

Адрес: 630060, г. Новосибирск,

ул. Тимакова, 2

Тел. моб.: 8(913) 733-40-71

E-mail: aplykov2@mail.ru

Лыков Александр Петрович

Дата: 05 мая 2025 г.



Личную подпись д.м.н. Лыкова Александра Петровича заверяю:

Учёный секретарь

НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН

кандидат биологических наук,

заведующая лабораторией

фармакологически активных соединений

Соловьева Анастасия Олеговна

