

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Тел/факс +7 (812) 702-37-30
e-mail: fmrc@almazovcentre.ru
ОГРН 1037804031011 ИНН 7802030429 КПП 781401001

06.03.2024 № 02-05-2615/24

на № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора
по научной работе Федерального
государственного бюджетного
учреждения «Национальный
медицинский исследовательский центр
имени В.А. Алмазова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

А.О. Конради
« 06 » марта 2024 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу в виде научного доклада Ефименко Анастасии Юрьевны на тему: «Роль мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности - 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Ефименко А.Ю. в виде научного доклада посвящена актуальной научной проблеме – изучению клеточных и молекулярных механизмов участия мезенхимных стромальных клеток (МСК) в поддержании функционирования и восстановления после повреждения ниш тканеспецифичных стволовых клеток, которые опосредуются действием секрета МСК. Нарушение специфического микроокружения постнатальных стволовых клеток, или ниши, например, при старении организма, хронических заболеваниях, серьезных травмах и других повреждениях, приводит к существенному нарушению способностей тканей к регенерации и развитию в

ИМБП ВХ. № 08/1127
от « 09 » 04 2024 г.

них необратимых дисфункциональных изменений. Поэтому понимание механизмов регуляции такого микроокружения является востребованным для решения широкого круга задач современной медицины, направленной на максимально полное восстановление структуры и функции поврежденных органов и тканей и продление активного долголетия. В рамках исследования были проанализированы основные известные механизмы участия МСК в регуляции различных ниш постнатальных стволовых клеток в норме и при повреждении. Были выделены и охарактеризованы основные фракции секрета МСК человека и изучена их роль в регуляции различных типов мультипотентных стволовых клеток и поддерживающих клеток, входящих в состав их ниш. Важнейшая роль секрета МСК в регенераторном действии этих клеток на ниши стволовых клеток была установлена на примере повреждения ниши сперматогониальных стволовых клеток. Таким образом, исследование А.Ю. Ефименко, направленное на раскрытие физиологической роли МСК в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток на клеточном и молекулярном уровнях, является актуальным вкладом в современную науку.

Представленная диссертационная работа в виде научного доклада находится на стыке физиологии, клеточной и молекулярной биологии и может быть отнесена к новому направлению биомедицинской науки – регенеративной медицине. Оригинальное исследование Ефименко А.Ю. находится на передовом крае данной дисциплины. Научная работа Ефименко А.Ю. полностью вписывается в направление «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов» Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации.

Научная новизна диссертационного исследования

В рамках данного исследования впервые показано, что секретом МСК вносит важнейший вклад в регенераторные эффекты этих клеток в отношении поддержания и восстановления после повреждения различных ниш тканеспецифичных стволовых клеток. В диссертационном исследовании раскрыты новые механизмы восстановления ниш при введении МСК или их секретома на примере ниши сперматогониальных стволовых клеток. Автором была установлена способность МСК за счет действия секретома или его отдельных фракций восстанавливать как структуру, так и функцию ниши сперматогониальных стволовых клеток в виде увеличения фертильности самцов, подавлять развитие фиброза в исходе повреждения и потенцировать направленную дифференцировку мультипотентных стволовых клеток.

На основании полученных данных впервые предложена природоподобная технология по направленной регуляции восстановления ниш стволовых клеток после повреждения с помощью экзогенного введения секретома МСК. Для этого был разработан прототип первого в своем классе биологического лекарственного препарата «МедиРег» на основе секретома МСК человека для лечения мужского бесплодия необструктивного генеза. Результаты диссертационного исследования позволили предложить механизм действия препарата, обосновать технологию его получения и подходы к стандартизации сложного многокомпонентного состава.

Научная и практическая значимость результатов, полученных автором диссертации в виде научного доклада

Научно-практическая значимость работы Ефименко А.Ю. определяется изучением механизмов регуляции ключевой морфофункциональной единицы обновления и регенерации постнатальных тканей – ниши стволовой клетки. Полученные в рамках диссертационного исследования результаты расширяют понимание физиологической роли МСК в этих процессах, показывают, что

МСК, которые входят в состав большинства известных ниш тканеспецифичных стволовых клеток, являются ключевыми клеточными компонентами ниш, участвующими в поддержании их функционирования в норме и при повреждении. Показано, что это происходит благодаря способности МСК воспринимать системные и локальные сигналы, регулировать дифференцировку и пролиферацию стволовых и прогениторных клеток, стимулировать восстановление компонентов ниши и привлекать в нее функциональные клетки, а также обеспечивать правильные регуляторные сигналы в нише. Полученные результаты доказывают, что указанные механизмы реализуются преимущественно за счет действия компонентов секрета МСК на нишу. В рамках диссертационного исследования был подробно изучен состав секрета МСК человека, описаны и охарактеризованы его различные фракции, включающие в себя как секретируемые компоненты, преимущественно белковой природы, так и молекулы в составе внеклеточных везикул. Установлены физиологические стимулы, оказывающие влияние на состав секрета МСК, в том числе при старении и при повреждении тканей. Важным результатом диссертационного исследования является раскрытие новых клеточных и молекулярных механизмов участия секрета МСК в регуляции ниши стволовых клеток на примере ниши сперматогониальных стволовых клеток, при этом установлено в прямом сравнительном эксперименте на животной модели, что эффекты МСК и секрета этих клеток в отношении восстановления поврежденной ниши сопоставимы. Показано, что секретом МСК действует преимущественно на уровне поддерживающих клеток ниши.

В рамках диссертационного исследования выяснен вклад отдельных секретируемых МСК факторов в способность этих клеток регулировать процесса репарации и регенерации тканей. Так, установлена роль специфических микроРНК, секретируемых МСК в составе внеклеточных везикул, в способности этих клеток участвовать в подавлении фиброза путем

ингибирования дифференцировки фибробластов в миофибробласты и стимуляции дедифференцировки миофибробластов. Показано, что секретируемые МСК компоненты внеклеточного матрикса могут поддерживать жизнеспособность колоний тканеспецифичных стволовых клеток и потенцировать ответ мультипотентных стволовых клеток при индукции дифференцировки в различных направлениях. Полученные научные результаты диссертационной работы могут быть использованы для дальнейшего углубленного изучения механизмов регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток и участия МСК в этих процессах.

Важным практическим результатом диссертационного исследования является разработка научных основ создания новых продуктов для регенеративной медицины, основанных на применении компонентов клеточного секрета в качестве терапевтических агентов. Так, с использованием результатов работы была разработана и оптимизирована технология получения и стандартизации прототипа первого в своем классе биологического лекарственного препарата на основе секрета МСК человека для лечения тяжелых нарушений сперматогенеза необструктивного генеза, сопровождающихся развитием мужского бесплодия.

Достоверность результатов и обоснованность используемых методов и выводов исследования

Диссертационное исследование выполнено с применением современных и актуальных биомедицинских методов, адекватных поставленным задачам. В ходе работы были использованы методы клеточных культур с выделением и культивированием различных типов первичных клеток человека и животных, технологии РНК-секвенирования кодирующих и некодирующих РНК, в том числе РНК секвенирования одиночных клеток, протеомный анализ и иммуноферментный анализ компонентов секрета МСК, анализ экспрессии отдельных генов и белков и модуляция их экспрессии с помощью методов

редактирования генома или добавления специфических блокирующих агентов, гистологические исследования и методы иммуногистохимического анализа и др. В исследование были включены как клеточные, так и животные модели различных патологических состояний, необходимые для выполнения задач диссертационного исследования.

Достоверность полученных результатов обеспечена тщательным выбором методов, достаточной экспериментальной выборкой, проведением экспериментов на различных модельных объектах и правильным подбором соответствующих контролей. В рамках работы выполнен адекватный статистический анализ полученных данных. На основе проведенной работы были сделаны выводы, которые непосредственно вытекают из полученных данных и точно соответствуют поставленным задачам.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационного исследований

Полученные фундаментальные научные данные следует использовать при чтении лекций в рамках образовательных курсов по физиологии и клеточной биологии и гистологии, а также включать в образовательные программы по регенеративной медицине. Полученные в рамках исследования результаты, доказывающие способность секрета МСК восстанавливать функцию ниши тканеспецифичных стволовых клеток на примере ниши сперматогониальных стволовых клеток и увеличения фертильности самцов крыс при нарушении сперматогенеза, должны быть использованы для обоснования разработки и дальнейших доклинических и клинических исследований нового класса биологических лекарственных препаратов на основе секрета МСК человека для стимуляции регенерации тканей за счет восстановления поврежденных ниш стволовых клеток.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа представляется в виде научного доклада, так как за последние 10 лет (2014-2023 гг.) Ефименко А.Ю. было опубликовано 52 статьи в журналах из Перечня ведущих российских рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК, в том числе 35 статей в журналах первого и второго квартилей (Q1 и Q2, соответственно), индексируемых базами данных Web of Science и Scopus, и 16 статей в научных изданиях, индексируемых наукометрической базой данных RSCI. Диссертация в виде научного доклада изложена на 55 страницах машинописного текста и содержит 27 рисунков, 3 таблицы и цитирует 52 научные работы автора. Раздел «заключение» описывает основные выводы работы и содержит рекомендации по возможности использования полученных результатов на практике для разработки биологических лекарственных препаратов на основе секретома МСК, направленных на стимуляцию восстановления поврежденных ниш стволовых клеток.

Замечания и вопросы

Существенных замечаний или вопросов по диссертационной работе Ефименко А.Ю. нет.

Полнота изложения основных результатов в научных статьях

Основные научные результаты диссертации опубликованы в 52 статьях за последние 10 лет (2014-2023 гг.), включая 35 статей в журналах первого и второго квартилей (Q1 и Q2, соответственно), индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus, и 16 статей в научных изданиях, индексируемых наукометрической базой данных RSCI. По теме диссертации также получено 7 патентов на изобретение РФ.

Заключение

Диссертационная работа в виде научного доклада «Роль мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток» Ефименко Анастасии Юрьевны, представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных, является целостной и завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, раскрывающие физиологические механизмы участия МСК в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток за счет действия компонентов их секретомы, что позволило предложить новый подход к разработке биологического лекарственного препарата для лечения тяжелых нарушений сперматогенеза, основанного на использовании способности секретомы МСК восстанавливать нишу сперматогониальных стволовых клеток.

По своей актуальности, объему выполненного исследования, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов представленная диссертация в виде научного доклада Ефименко Анастасии Юрьевны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора наук (пп. № 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в последующих редакциях), а ее автор заслуживает присвоения ей искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.5 — Физиология человека и животных.

Диссертационная работа в виде научного доклада Ефименко Анастасии Юрьевны «Роль мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток», представленная на соискание ученой

степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных, была обсуждена на совместном научном собрании Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России и кафедры патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, отзыв на нее подготовлен и утвержден на заседании кафедры патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России «29» февраля 2024 года (Протокол № 2 от 29.02.2024).

Отзыв подготовлен директором Института экспериментальной медицины, заведующим кафедрой патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, д.м.н., проф., член-корр. РАН Михаилом Михайловичем Галагудза.

Доктор медицинских наук (по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология)

Член-корр. РАН, директор Института экспериментальной медицины, заведующий кафедрой патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Контактные данные:

Тел.: +7(921)345-52-43

e-mail: galagoudza@mail.ru

Адрес места работы: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Тел.: +7 (812) 702-37-06

e-mail: fmrc@almazovcentre.ru

<http://www.almazovcentre.ru/>

Подпись д.м.н. М.М. Галагудза заверяю.

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
доктор медицинских наук,
профессор



Галагудза Михаил Михайлович

А. О. Недошивин