

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.111.01 на базе
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного
научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем
Российской академии наук

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК
аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 27.06.2019 г. № 15
о присуждении Ратушному Андрею Юрьевичу, гражданину РФ, ученой степени
кандидата биологических наук.

Диссертация «Репликативное старение мезенхимальных стромальных
клеток человека в условиях с различным содержанием кислорода» по
специальностям: 03.03.01 – физиология и 03.03.04 - клеточная биология,
цитология, гистология принята к защите 25.04.2019 г., протокол № 10
диссертационным советом Д 002.111.01 на базе Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской
Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии
наук (ГНЦ РФ - ИМБП РАН), Минобрнауки России, 123007, г. Москва,
Хорошевское шоссе д.76а, приказ № 937-592 от 16.05.2008 года, приказ о
частичном изменении состава № 1577/нк от 16.12.2016 года.

Соискатель – Ратушный Андрей Юрьевич, 1990 года рождения, В 2014 г.
окончил биологический факультет Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова по специальности «Генетика», а в 2018 году завершил
обучение в очной аспирантуре ГНЦ РФ - ИМБП РАН.

Работает исполняющим обязанности научного сотрудника лаборатории
Клеточной физиологии в ГНЦ РФ - ИМБП РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории Клеточной физиологии ГНЦ РФ -
ИМБП РАН.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор, член-
корреспондент РАН Буравкова Людмила Борисовна, заместитель директора по
научной работе ГНЦ РФ - ИМБП РАН, заведующий лабораторией Клеточной
физиологии.

Официальные оппоненты:

1. Дризе Нина Иосифовна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией физиологии кроветворения, ФГБУ национальный медицинский исследовательский центр «Гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
2. Плотников Егор Юрьевич, доктор биологических наук, зав. лабораторией структуры и функции митохондрий, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

дали положительные отзывы на диссертационную работу.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России), представила положительное заключение. Заключение составлено ведущим научным сотрудником лаборатории ангиогенеза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ РКНПК Минздрава России, доктором биологических наук Меньшиковым Михаилом Юрьевичем, и руководителем лаборатории ангиогенеза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ РКНПК Минздрава России, доктором медицинских наук, профессором Парфеновой Еленой Викторовной, подписано ученым секретарем НИИЭК НМИЦ кардиологии Минздрава России, доктором медицинских наук Плехановой Ольгой Сергеевной и утверждено генеральным директором ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН Бойцовым Сергеем Анатольевичем. В заключении указано, что диссертация Ратушного А.Ю., представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является завершенной научно-квалификационной работой, заслуживает высокой оценки, полностью соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а соискатель Ратушный А.Ю. заслуживает присуждения

ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается необходимостью привлечения для оппонирования диссертации специалистов в области изучения возрастных аспектов физиологии стромальных прогениторных клеток.

Соискатель имеет более 40 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 16 работ, из которых 4 - статьи в журналах, входящих в перечень ВАК РФ и базы данных Scopus/Web of Science, 12 публикаций - в материалах российских и международных конференций, съездов и симпозиумов.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Лобанова М.В., **Ратушный А.Ю.**, Буравкова Л.Б.. Экспрессия генов, ассоциированных со старением, в мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках при длительном культивировании в условиях разного содержания кислорода // Доклады Академии Наук. - 2016. - Т. 470. - №2. - С. 227-229.
2. **Ratushnyy A**, Lobanova M, Buravkova LB. Expansion of adipose tissue-derived stromal cells at "physiologic" hypoxia attenuates replicative senescence // Cell Biochem Funct. – 2017. – Vol. 35. - №4 – P. 232-243.
3. Лобанова М.В., **Ратушный А.Ю.**, Ездакова М.И., Буравкова Л.Б. Устойчивость мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к действию глюкозной депривации в условиях сниженного содержания кислорода // Биофизика. - 2018. - Т. 63. - №3. - С. 503-509.
4. **Ратушный А.Ю.**, Рудимова Ю.В., Буравкова Л.Б. Изменение транскрипции генов, ассоциированных с реакцией на гипоксию, в мезенхимальных стромальных клетках при репликативном старении в условиях физиологического содержания кислорода // Биохимия. – 2019. – Т. 84. - С. 380 – 391.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На автореферат поступило 5 отзывов от:

1. Младшего научного сотрудника лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Института общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН кандидата биологических наук Габашвили Анны Николаевны. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Старшего научного сотрудника, врио. рук. лаборатории структуры и функций генов человека ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН кандидата химических наук Чернова Игоря Павловича. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Ведущего научного сотрудника лаборатории сравнительной физиологии дыхания ФГБУН «Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН доктора биологических наук Вётоша Александра Николаевича. Отзыв положительный, без замечаний.
4. Заведующий лабораторией репарации и регенерации тканей Института регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» кандидата медицинских наук Ефименко Анастасии Юрьевны. Отзыв положительный, без замечаний.
5. Ведущего научного сотрудника лаборатории ангиогенеза НИИ экспериментальной кардиологии ФГБУ НМИЦ кардиологии МЗ РФ, доктора биологических наук, кандидата медицинских наук, профессора Романова Юрия Аскольдовича

В диссертационной работе представлены исследования функционального состояния тканеспецифичных мезенхимальных стромальных клеток человека при репликативном старении, а также рассматривается влияние, оказываемое факторами микроокружения, в частности, уровнем кислорода.

Во время работы проводилось длительное культивирование мезенхимальных клеток, выделенных из жировой ткани, до достижения лимита Хейфлика при физиологическом (5%) и атмосферном (20%) уровнях кислорода.

Комплексный анализ феноменологических признаков старения позволил определить максимально возможное время поддержания исследуемых культур клеток *in vitro*, а также изучить основные морфофункциональные свойства клеток при достижении сенесцентного состояния. Продемонстрировано, что при культивировании мезенхимальных клеток в условиях физиологического уровня кислорода, повышается пролиферация. При этом, снижается количество нежизнеспособных клеток и клеток с активной β -галактозидазой.

Впервые рассмотрены вопросы, касающиеся активности митохондриального и лизосомального компартментов мезенхимальных клеток при репликативном старении. Продемонстрировано, что сенесцентные клетки при 5% кислорода демонстрируют снижение количества внутриклеточных АФК и уровня перекисного окисления липидов, а также мембранного потенциала митохондрий и активности лизосомального компартмента по сравнению с атмосферным уровнем оксигенации.

В ходе выполнения диссертационной работы получены новые данные о паракринной активности и экспрессии генов мезенхимальных клеток при длительном культивировании. Впервые показано снижение продукции TGF β при перманентном поддержании физиологического уровня O₂ (5%). Культивирование при 5% O₂ позволяет смягчить изменения экспрессии генов, ассоциированных со старением. Отдельно стоит отметить снижение экспрессии *HIF1A*, основного регулятора реакции клетки на гипоксию, в модели репликативного старения мезенхимальных стромальных клеток.

Таким образом, экспериментальные данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, вносят значительный вклад в имеющиеся представления о биологии старения тканеспецифичных предшественников. Выявлены модификации свойств клеток при достижении ими сенесцентного состояния. Показаны эффекты, оказываемые физиологическим уровнем кислорода, на функциональные особенности мезенхимальных клеток при длительном культивировании.

Особую важность проведенные исследования представляют для практического применения. На сегодняшний день мезенхимальные стромальные

клетки, благодаря ряду уникальных свойств, представляют собой один из наиболее перспективных инструментов для регенеративной медицины. Полученные данные указывают на то, что использование тканевого уровня кислорода может выступать в качестве «мягкого» позитивного фактора, поддерживающего терапевтические свойства мезенхимальных стромальных клеток и препятствующего проявлению признаков, ассоциированных с клеточным старением.

Положения, выносимые диссертантом на защиту, а также выводы по результатам диссертационной работы основаны на тщательном изучении научной литературы и анализе собственных экспериментальных данных. Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным количеством независимых наблюдений и проведением корректного статистического анализа. В работе использованы современные методы исследования, которые соответствуют поставленным в данной работе цели и задачам. Полученные результаты представлены в графиках и таблицах, а также проиллюстрированы микрофотографиями и диаграммами.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования от постановки целей и задач до написания научных работ и представления результатов на научных мероприятиях. Диссертант участвовал в планировании и проведении экспериментов, осуществлял статистическую обработку, критическую оценку и интерпретацию полученных результатов, формулировал положения, выносимые на защиту, и выводы.

На заседании 27.06.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Ратушному А.Ю. ученую степень кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 - физиология и 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 31 человека (из них 12 докторов наук по специальности 03.03.01 – физиология и 3 по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология), участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за

присуждение учёной степени - 31, против присуждения учёной степени - нет,
недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор медицинских наук, академик РАН

Орлов Олег Игоревич

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Поддубко Светлана Викторовна

« 24 » июня 2019 г.