

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента Литвиновой Ларисы Сергеевны на диссертационную работу в виде научного доклада Ефименко Анастасии Юрьевны на тему «Роль мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток», представленной к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

В последние десятилетия регенеративная медицина стала одним из самых актуальных и быстро развивающихся направлений биомедицины. Огромный интерес вызывают исследования в области изучения стволовых клеток в обновлении и регенерации тканей, позволяющие предлагать принципиально новые подходы к лечению серьезных заболеваний с помощью методов клеточной терапии и тканевой инженерии. Однако значительное число клинических исследований таких подходов не показали ожидаемой эффективности. Это определяет необходимость более глубокого понимания фундаментальных физиологических механизмов, опосредующих репарацию и регенерацию тканей с участием постнатальных стволовых клеток и поиск способов направленной регуляции эндогенных процессов обновления и восстановления тканей. Цели и задачи диссертационного исследования Ефименко А.Ю. направлены на решение этих важнейших вопросов. Последние достижения в области регенеративной биомедицины позволили установить значимость мезенхимных стромальных клеток (МСК) в поддержании функционирования стволовых клеток в разных тканях за счет влияния на их специфическое микроокружение – нишу стволовых клеток. Однако, механизмы реализации регенераторного действия МСК на ниши изучены недостаточно, что определяет актуальность данной работы.

**Научная новизна исследования.** В диссертационном исследовании было показано, что значительная часть регенераторных эффектов МСК в отношении ниш тканеспецифичных стволовых клеток реализуется через действие комплекса секретлируемых факторов (секретома). В работе

ИМБП ВХ. № 08/1128  
от «09» 04 2024 г.

проанализирован состав секрета МСК человека, в том числе его отдельных фракций, с точки зрения детекции молекулярных медиаторов различных процессов, вовлеченных в регуляцию репарации и регенерации тканей. Впервые установлена роль секрета МСК в регуляции ниши сперматогониальных стволовых клеток и показано преимущественное влияние на поддерживающие клетки ниши. Впервые продемонстрировано, что регенераторные эффекты при экзогенном введении как самих МСК, так и компонентов их секрета сравнимы, что подчеркивает важную роль паракринной активности этих клеток в нише. Получены новые данные, раскрывающие молекулярные механизмы действия отдельных компонентов фракций секрета МСК в регуляции мультипотентных стволовых клеток и поддерживающих клеток, входящих в состав их ниш.

#### **Полнота изложения основных результатов в научных статьях.**

Материалы диссертации в виде научного доклада полностью изложены в 52 статьях, опубликованных за 2014-2023 гг. в рецензируемых изданиях. Из них 35 статей опубликованы в научных изданиях первого и второго квартилей (Q1/Q2), индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus, а 16 статей - в научных изданиях, индексируемых наукометрической базой данных RSCI. Основные положения диссертационной работы в виде научного доклада опубликованы в высокорейтинговых профильных международных журналах.

**Обоснованность используемых методов исследования, достоверность результатов и обоснованность выводов исследования.** Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. В работе использованы современные методы клеточной биологии, молекулярной физиологии и биохимии, а также адекватные методы статистической обработки данных, соответствующие поставленным задачам. Научные данные получены на большом количестве клеточных и животных моделей, включая модели повреждения сперматогенной ниши и фиброза легких. Выбранные методы исследования адекватны поставленным задачам.

**Общая характеристика диссертации.** Диссертация в виде научного доклада изложена на 55 страницах машинописного текста, содержит 27

рисунков и 3 таблицы. Основная часть диссертации содержит «Введение», 5 глав результатов и «Заключение». В работе процитированы все основные статьи, опубликованные диссертантом по теме диссертации за последние 10 лет.

**Степень обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Таким образом, диссертация в виде научного доклада Ефименко А.Ю. представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу, в которой представлены новые научные результаты, указывающие на важную физиологическую роль МСК в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток, реализуемую за счёт паракринной активности этих клеток. Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе, является достаточной. Выводы логично сформулированы, исходя из полученных экспериментальных данных. Выполненная работа имеет высокую практическую значимость, так как полученные результаты легли в основу разработки прототипа нового биологического лекарственного препарата на основе секрета МСК человека для лечения мужского бесплодия необструктивного генеза. Результаты доклинического изучения эффективности и безопасности препарата вошли в состав регистрационного досье с целью получения разрешения на проведение клинических исследований. Новизна и практическая значимость диссертационной работы подтверждены 7 патентами на изобретение РФ.

При ознакомлении с работой возник ряд вопросов и комментариев.

1. Один из основных разделов диссертационной работы раскрывает механизмы участия МСК в регуляции ниши сперматогониальных стволовых клеток (ССК) путем влияния на поддерживающие клетки ниши. Было ли изучено влияние МСК непосредственно на ССК? Насколько полученные результаты могут быть перенесены на другие тканеспецифичные ниши?
2. В работе представлены экспериментальные данные, касающиеся участия микроРНК-92а в регуляции проангиогенных свойств МСК, предположительно, через влияние на продукцию HGF. Однако, мРНК HGF

не является прямой мишенью для исследуемой микроРНК. Остается неясным, каков механизм наблюдаемых эффектов и могут ли они быть связаны с переносом микроРНК в эндотелиальные клетки в составе секретлируемых внеклеточных везикул?

3. Для направленного изменения содержания микроРНК во внеклеточных везикулах, секретлируемых МСК, в работе используется метод трансфекции везикул синтетическими олигонуклеотидами, имитирующими гиперэкспрессию или блокирующих выбранные микроРНК. Приводит ли добавление таких везикул к таргетным клеткам (фибробластам) к значимым изменениям представленности исследуемых микроРНК в этих клетках?

4. Часть диссертационной работы посвящена установлению молекулярных механизмов участия МСК в регуляции фиброза через действие компонентов секрета этих клеток на дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Но важным звеном патогенеза фиброза является воспалительная реакция тканей на повреждение. Была ли проведена оценка участия секрета МСК в регуляции воспалительного ответа при фиброзе?

Высказанные комментарии и замечания носят дискуссионный характер и не снижают высокой научной ценности представленной диссертационной работы.

**Заключение.** Таким образом, 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, является законченной новаторской работой, которую можно квалифицировать как научное достижение в области физиологии и регенеративной медицины. По актуальности темы исследования, объёму и уровню исследований, новизне и практической значимости полученных результатов представленная работа 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.

Директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, профессор кафедры фундаментальной медицины онкологического «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский университет имени Иммануила Канта»  
доктор медицинских наук, доцент

Лариса Сергеевна Литвинова

«11» марта 2024 г.

Подпись доктора медицинских наук, доцента Литвиновой Ларисы Сергеевны заверяю:

ученый секретарь ученого совета БФУ им. И. Канта,  
канд. физ-мат. наук, доцент

А.А. Шпилевой

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»: 236041, Россия, Калининград, ул. А. Невского, 14; тел.: +7 (4012)59-55-95/6631; +7-911-482-0489; [LLitvinova@kantiana.ru](mailto:LLitvinova@kantiana.ru)