

В диссертационный совет Д 002.111.01  
при Федеральном государственном  
бюджетном учреждении науки  
Государственном научном центре РФ –  
Институте медико-биологических  
проблем Российской академии наук

### ОТЗЫВ

**На автореферат диссертации Ратушного Андрея Юрьевича «Репликативное старение мезенхимальных стромальных клеток человека в условиях с различным содержанием кислорода», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.**

Поиск принципиально новых подходов к замещению и полноценному структурному и функциональному восстановлению утраченных или поврежденных тканей привел к бурному развитию регенеративной медицины и, в частности, клеточной терапии, одним из основных инструментов которой являются постнатальные стволовые и прогениторные клетки. К ним относятся и мезенхимные стволовые/стромальные клетки (МСК), перспективы применения которых для лечения самых различных заболеваний показаны во многих экспериментальных и клинических исследованиях. Однако большинство протоколов предполагает выделение и наращивание этих клеток в культуре, часто в течение достаточно длительного времени, что требует тщательного изучения влияния культуральных условий на функциональную активность клеток, определяющую их терапевтическую эффективность. Одним из ключевых процессов при этом является репликативное старение культивируемых клеток, хорошо описанное для разных клеточных типов, в том числе для МСК. Содержание кислорода играет важную роль в регуляции физиологических процессов в клетке, а именно его содержание драматически меняется при перемещении выделенных клеток из тканей в культуру при стандартных условиях, что способствует, по-видимому, ускоренному клеточному старению и может существенно сказываться на функциональной активности клеток. Поэтому актуальность темы диссертационной работы Ратушного А.Ю., посвященной изучению репликативного старения МСК человека при различном содержании кислорода, не вызывает сомнений и позволяет характеризовать работу диссертанта как своевременное и перспективное исследование.

ИМБЛ  
Вход. № 08/1425  
от 20.06.2019

Новые данные, представленные в работе Ратушного А.Ю., раскрывают значимость поддержания определенного уровня кислорода, близкого к тканевому уровню, при культивировании МСК жировой ткани человека, в том числе в течение длительного времени, для сохранения их функциональной активности и относительного замедления процессов, ассоциированных с репликативным старением. С помощью оценки накопления в культуре биомаркеров сенесцентных клеток и определения жизнеспособности клеток автор приводит убедительные доказательства того, что физиологический уровень кислорода (5%) позволяет предупредить или замедлить негативные изменения, происходящие при старении МСК при длительном культивировании. Ратушным А.Ю. продемонстрировано, что постоянное культивирование МСК при таком уровне кислорода сопровождается снижением активности митохондриального и лизосомального компартментов, а также уровня окислительного стресса, в том числе при длительном культивировании клеток. Приоритетными являются сведения о скоординированном изменении паттерна экспрессии генов в МСК, культивируемых при физиологическом уровне кислорода, что отражает влияние содержания кислорода как важнейшего показателя клеточного микроокружения на процесс репликативного старения клеток. Важно отметить, что при старении клеточной культуры, по-видимому, снижается способность клеток отвечать на гипоксические стимулы – аналогичные данные были получены при изучении влияния возраста доноров на МСК жировой ткани.

В работе представлены также интересные данные, полученные при исследовании секрета МСК, культивируемых при разном содержании кислорода. Так, показано ожидаемое повышение продукции клетками некоторых компонентов SASP при старении культуры, однако выявлено относительное снижение продукции TGF $\beta$  при физиологическом уровне кислорода, что также может указывать на возможность замедления развития клеточного старения с помощью поддержания 5% уровня кислорода. Безусловно, полученные данные имеют не только научную, но и практическую ценность, поскольку фактически обосновывают возможность и даже необходимость модуляции содержания кислорода при длительном культивировании МСК человека с целью повышения их терапевтических свойств.

Следует отметить, что диссертационное исследование выполнено на высоком уровне с использованием современных методов (культуральные методы, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ, количественная ПЦР и др.) и методических подходов, высокотехнологичного оборудования, а также адекватных критериев для статистической обработки результатов, что позволяет не сомневаться в достоверности полученных результатов. Автореферат полностью отражает основные



положения диссертации. По материалам диссертационной работы опубликовано 16 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК и базы данных Scopus/Web of Science.

Принципиальных замечаний по работе нет. Следует отметить, что результаты по изменению генной экспрессии HIF1A, ключевого регулятора ответа клеток на гипоксию, было бы целесообразно подкрепить данными по содержанию этого белка в клетках, отражающими его стабилизацию. Однако высказанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают высокую оценку диссертационной работы.

Диссертация Ратушного А.Ю. отвечает всем требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

кандидат медицинских наук,  
зав.лабораторией репарации и регенерации тканей  
Института регенеративной медицины  
Медицинского научно-образовательного центра  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Московский государственный университет  
имени М.В.Ломоносова»

 А.Ю. Ефименко

Контактная информация: Ефименко Анастасия Юрьевна, канд. мед. наук (03.01.04 – биохимия, 14.01.05 – кардиология), зав.лабораторией репарации и регенерации тканей Института регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», 119192, Москва, Ломоносовский пр., 27, корп. 10; [efimenkoan@gmail.com](mailto:efimenkoan@gmail.com), +79166773257 (моб.).

Подпись ФИО заверяю:

 (подпись) ФИО 

17.06.2019

