

УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНЦ РФ - ИМБП РАН,  
академик РАН



О.И.Орлов

2017 г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ**

о научно-практической ценности диссертации

Арутюнян Ирины Владимировны «Ангиогенные свойства мультипотентных стромальных клеток пупочного канатика», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

### **Актуальность темы выполненной работы**

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются предметом значительного научного интереса специалистов в области клеточной биологии. Это связано как с появлением новых данных об их потенциях и роли в развитии организма, так и с реальными перспективами использования МСК в клеточной терапии и регенеративной медицине. Особый интерес представляет использование этих клеток для стимуляции ангиогенеза, что определяет актуальность темы диссертационной работы И.В.Арутюнян. Заболевания, связанные с нарушением кровоснабжения органов и тканей в настоящее время становятся все более распространенными. Несмотря на успехи реконструктивной хирургии, проблема успешной реваскуляризации ишемизированной ткани остается неразрешенной. Терапевтический ангиогенез с использованием стволовых/прогениторных клеток считается одним из перспективных подходов к решению данной проблемы, однако эффективность его применения во многом

зависит от расшифровки механизмов проангиогенной активности конкретных типов клеток.

В связи с этим цель исследования Арутюнян И.В. – изучение механизмов ангиогенной активности мультипотентных стромальных клеток (МСК) пупочного канатика и оценка перспективы их применения для клеточной терапии ишемического повреждения скелетной мышечной ткани, является актуальной.

### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Малодифференцированные стромальные предшественники представляют собой гетерогенную клеточную популяцию. Их биологическая активность зависит от конкретной тканевой локализации. В настоящее время наиболее хорошо исследованы МСК периваскулярной ниши, которые находятся практически во всех тканях организма. Научная новизна исследования заключается в том, что впервые охарактеризован ангиогенный потенциал особой, не ассоциированной с эндотелиальной выстилкой популяции МСК из пупочного канатика.

При проведении исследования *in vitro* автором впервые установлено, что МСК пупочного канатика используют отличный от МСК из других источников VEGF (фактор роста эндотелия сосудов)-независимый путь паракринной стимуляции пролиферации, подвижности и миграции эндотелиальных клеток. Также *in vitro* автором показана возможность реализации заместительного механизма стимуляции ангиогенеза с участием МСК пупочного канатика, в том числе при взаимодействии с эндотелиальными клетками.

В части работы, выполненной на модели ишемии конечности крысы, автором прослежена динамика элиминации трансплантированных МСК, что позволило подтвердить наличие феномена иммуноклончивости, но не иммунопривелегированности аллогенных МСК.

Не найдя подтверждения реализации заместительного механизма терапевтического ангиогенеза *in vivo*, автор обнаружил влияние трансплантации

МСК на активацию прорегенераторных M2 макрофагов в области ишемического повреждения скелетной мышечной ткани.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Несомненным достоинством работы является четкая структурированность исследования. На первом этапе были получены и охарактеризованы первичные клеточные культуры из пупочного канатика человека и крысы, была подтверждена их принадлежность к мультипотентным стромальным клеткам. На втором этапе было проведено *in vitro* исследование возможных механизмов (паракринного и заместительного), обеспечивающих реализацию ангиогенного потенциала МСК пупочного канатика. На третьем этапе было проведено *in vivo* исследование влияния аллогенной трансплантации МСК пупочного канатика на состояние скелетной мышечной ткани крысы с моделированной ишемией.

Для решения поставленных автором задач использован комплекс современных методов исследования: культуральных, морфологических, морфометрических, молекулярно-биологических и статистических.

Степень обоснованности результатов исследования не вызывает сомнений. Сформулированные автором выводы достоверны и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Полученные автором данные о свойствах МСК пупочного канатика, их взаимодействии с эндотелиальными клетками и макрофагами имеют важное значение для науки. К примеру, данные об активации M2 макрофагов в области повреждения под действием трансплантированных МСК позволяют приблизиться к пониманию сложных механизмов, обеспечивающих эффективность применения клеточных трансплантатов для лечения широкого круга заболеваний. Противоречивые данные по дифференцировке МСК в эндотелиальном направлении (автор показал её возможность в культуре, но не нашёл подтверждения в ишемизированной мышце) позволяют еще раз убедиться в том,

что многие возможности клеток *in vitro* не всегда могут быть реализованы в условиях *in vivo*.

Практическая ценность работы заключается в том, что автор убедительно показал эффективность применения МСК пупочного канатика для лечения ишемического повреждения скелетной мышечной ткани на модели заболевания, выявил основные механизмы данной активности, что может способствовать проведению дальнейших исследований в области клеточной трансплантологии и регенеративной медицины.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы**

Результаты исследования вносят существенный вклад в прояснение тканеспецифичности потенциала малодифференцированных стромальных предшественников и могут быть включены в курсы частной гистологии для студентов высших и средних учебных заведений медицинских и биологических специальностей.

Данные об использовании VEGF-независимого пути стимуляции ангиогенеза могут быть учтены при разработке клинических протоколов для лечения ишемии нижних конечностей, особенно для тех пациентов, лечение которых с помощью VEGF (в виде белков или плазмид) оказалось неэффективным.

Описанная автором поляризация макрофагов под действием МСК пупочного канатика в области ишемического повреждения скелетной мышечной ткани имеет важное значение для клиницистов, особенно при назначении ими подавляющих макрофагальную инфильтрацию препаратов.

Выполненная автором количественная оценка элиминации МСК, долгое время считавшихся иммунопривилегированными клетками, позволяет провести коррекцию протоколов использования данных клеток в клинических испытаниях, а именно рекомендовать проведение повторных трансплантаций через определенные интервалы времени.

Структура диссертации традиционная. Работа написана хорошим научным

языком, иллюстрирована рисунками высокого качества.

Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

По материалам диссертационной работы опубликовано 16 научных работ, из них 8 статей в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

В качестве дискуссии хотелось бы, чтобы автор ответил на следующие вопросы:

1. Можно ли называть матриксом базальной мембраны коммерческий препарат «Матригель», ведь с точки зрения гистологии базальная мембрана – тонкий бесклеточный слой, отделяющий соединительную ткань от эндотелия и эпителия, неоднородный (состоит из 2 пластинок (светлой и темной))?

2. Насколько корректно употреблять термин "поляризация макрофагов" с учетом понятий физиологии клетки (поляризация эпителия, нейронов и т.п.)?

### **Заключение**

Диссертационная работа Арутюнян И.В. «Ангиогенные свойства мультипотентных стромальных клеток пупочного канатика», выполненная под руководством д.м.н., доцента Фатхудинова Т.Х., является научно-квалификационной работой, представляющей собой самостоятельное и логически завершенное научное исследование, посвященное решению актуальной научной задачи, а именно изучению механизмов реализации ангиогенной активности мультипотентных стромальных клеток пупочного канатика.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, клеточной трансплантологии и регенеративной медицины.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Арутюнян И.В. соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842),

предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. Автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании межлабораторной конференции лабораторий клеточной физиологии, протеомики и физиологии иммунной системы ГНЦ РФ ИМБП РАН (протокол № 1 от 02 марта 2017 года).

Ведущий научный сотрудник  
лаборатории клеточной физиологии  
ГНЦ РФ ИМБП РАН,

Андреева Е.Р.

кандидат биологических наук по специальностям  
03.00.04 – биохимия, 03.03.04 – клеточная биология,  
цитология, гистология

Заместитель директора по научной работе  
заведующий лабораторией клеточной физиологии  
ГНЦ РФ ИМБП РАН,



Буравкова Л.Б.

доктор медицинских наук по специальности  
14.00.32 – авиационная, космическая  
и морская медицина, профессор, член-корреспондент РАН

Адрес: 123007 Россия, г. Москва, Хорошевское ш., д. 76А

Тел.: 8 (499) 195-68-76

[www.imbp.ru](http://www.imbp.ru), e-mail: [info@imbp.ru](mailto:info@imbp.ru)