

## ОТЗЫВ

### ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе 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**

Тема диссертационной работы И.В. Арутюнян безусловно актуальна. Это определяется высокой распространенностью ишемических поражений различных органов и тканей, а также уровнем последующей смертности, инвалидности и нетрудоспособности населения. При этом, несмотря на выдающиеся успехи современной ангиологии и сосудистой хирургии, требуются новые подходы к решению этой проблемы. Одним из таких подходов являются разрабатываемые во многих странах мира методы клеточной терапии, основанные на стимуляции ангиогенеза (терапевтический ангиогенез) с помощью генно- и тканеинженерных конструкций, включая терапию с использованием стволовых/прогениторных клеток человека. Однако, несмотря на определенные успехи, достигнутые в ходе экспериментальных исследований, клеточные и биохимические механизмы терапевтического ангиогенеза остаются изученными недостаточно, что и определяет особый интерес к теме диссертационной работы. Остается открытым вопрос и об оптимальном (с точки зрения биологических, медицинских, этических и т.п. проблем) источнике клеток для перспективного клинического применения.

В свете вышесказанного работа И.В.Арутюнян представляет несомненный научно-практический интерес. Основной целью работы стало изучение механизмов реализации ангиогенной активности

мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) пупочного канатика *in vitro* и *in vivo*.

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

Несмотря на возрастающее количество экспериментальных работ, посвященных терапевтическому ангиогенезу и возможности использования для его стимуляции различных клеточных типов, включая МСК, многие вопросы пока не нашли ответа. Один из них – какие молекулы ответственны за образование новых капилляров в ишемизированном органе. Одним из кандидатов на эту роль считается фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), вполне успешно продуцируемый МСК. Однако проведенные автором исследования позволили впервые установить, что МСК пупочного канатика могут использовать независимый от VEGF путь паракринной стимуляции пролиферации и миграции эндотелиальных клеток (ЭК). Подобная активность может быть связана с существованием заместительного механизма стимуляции ангиогенеза, определяемого более сложным коктейлем цитокинов и ростовых факторов.

После успешного проведения серии экспериментов на культуре клеток, автор переходит к экспериментальной модели ишемии конечности у животных. В числе прочих была исследована динамика элиминации трансплантированных МСК, а также возможность введенных клеток непосредственно участвовать в формировании новых кровеносных сосудов. Проведенные исследования показали, что последний механизм маловероятен, и в дополнение к полученным данным позволили пролить свет еще на одно явление, сопровождающее ишемию – воспаление. Выяснилось, что МСК способны не только стимулировать неоангиогенез, но и оказывать противовоспалительное воздействие, меняя фенотип макрофагов в сторону прорегенераторных. Кстати, полученные автором

данные в очередной раз подвергли сомнению постулат об «иммунопривилегированности» МСК, выдвигаемый ранее целым рядом авторов.

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

Несмотря на то, что данная работа защищается по специальности «клеточная биология», в ней прослеживается определенная медицинская направленность. Это во многом определило ее идеологию и последовательность проведения исследований. В первом блоке исследований автором были отработаны условия получения культур МСК, дана их характеристика, исследована синтетическая активность. Вторая группа экспериментов посвящена изучению непосредственно механизмов терапевтического ангиогенеза *in vitro*. И, наконец, заключительная часть работы – верификация полученных данных в экспериментах *in vivo* – т.е., фактически, одна из стадий доклинического исследования на экспериментальных животных.

В работе автором использован широкий набор методических приемов, включающих методы «классической» клеточной биологии (выделение, культивирование и анализ нескольких типов клеток), хирургические (моделирование ишемии), методы морфологического и статистического анализа. Полученные данные тщательно выверены, подкреплены иллюстративным материалом и данными статистического анализа. Все это позволяет рассматривать полученные результаты как достоверные, а выводы и умозаключения – как обоснованные.

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

Экспериментальные данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, имеют несомненную научно-практическую значимость. В равной степени это относится и к результатам анализа

межклеточных взаимодействий с участием МСК, эндотелиальных клеток и клеток крови (моноцитов/макрофагов), и к данным, полученным в экспериментах *in vivo*. Помимо непосредственного интереса к полученным результатам со стороны специалистов в области ангиологии, описанные разработки могут оказаться полезными и для более широкого круга исследователей, включая клеточных биологов и терапевтов. В целом данное исследование подтвердило эффективность применения трансплантации МСК пупочного канатика при поражениях мышц ишемического генеза и раскрыло некоторые механизмы этого процесса. В перспективе полученные данные (наряду с результатами, полученными другими исследователями) могут быть использованы при разработке и создании клеточных продуктов медицинского назначения.

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

Результаты, полученные при изучении межклеточных взаимодействий, анализе секреторной активности МСК и ангиогенном потенциале МСК могут быть использованы при разработке протоколов доклинических и клинических исследований с использованием МСК человека. Кроме этого, использование данного клеточного типа может оказаться обоснованным при необходимости влияния на клеточные механизмы воспаления, сопровождающего большинство известных патологических процессов в организме. Очередное подтверждение превалирования паракринной регуляции и рано или поздно происходящей элиминации донорских клеток иммунной системой реципиента может быть учтено при разработке протоколов клеточной терапии в сторону увеличения кратности введения клеточного продукта, на что указывают данные, полученные и другими исследователями в данной области.

### **Структура и общее впечатление о работе**

Диссертационная работа написана по традиционному плану и

содержит все необходимые разделы. Во введении автор обрисовывает проблему в целом, акцентируя внимание на МСК из перинатальных источников, четко формулирует цель и задачи исследования.

В обзоре литературы приведены последние сведения об МСК, источниках и способах их получения, основных свойствах. Отдельные подразделы обзора посвящены исследованиям транскриптома и секретома МСК, их иммуномодулирующих свойств, позволяющих рассматривать данный тип клеток в качестве одного из претендентов на использование в клеточной терапии. В последующих разделах автор суммирует последние данные о проводимых доклинических и клинических исследованиях с использованием клеток Вартонова студня.

Материалы и методы исследования написаны лаконично и в то же время детально. Раздел содержит описание многочисленных методов, соответствующих каждому из трех этапов работы.

Раздел, содержащий описание полученных результатов, является наиболее объемным и прекрасно иллюстрирован цветными микрофотографиями, графиками и диаграммами. Статистическая достоверность полученных данных подтверждена соответствующими расчетами.

В обсуждении и заключении по работе автор критически оценивает полученные экспериментальные данные, формулирует основные выводы.

В целом, работа производит благоприятное впечатление. Она написана хорошим литературным языком и практически не содержит опечаток.

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.

Существенных замечаний к работе нет. К незначительным можно отнести следующее:

несколькостораживает раздел, описывающий приобретение МСК эндотелиального фенотипа (экспрессии CD31) *in vitro*, а приведенные микрофотографии не позволяют однозначно их трактовать. Впрочем, сама автор достаточно критически относится к этой возможности, опираясь как на международный опыт, так и на собственные результаты *in vivo*;

из вывода №6 до конца не ясно, о каких клетках идет речь – аллогенных или аутологичных.

### **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 задачи, а именно изучению механизмов реализации ангиогенной активности мультипотентных стромальных клеток пупочного канатика.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, 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.


Ведущий научный сотрудник  
научно-практической лаборатории  
стволовых клеток человека  
НИИ экспериментальной кардиологии  
ФГБУ «Российский кардиологический  
научно-производственный комплекс МЗ РФ»,  
к.м.н., д.б.н., профессор по специальности  
03.03.04 – клеточная биология, цитология,  
гистология

 Ю.А. Романов

Подпись Ю.А.Романова заверяю

Ученый секретарь  
НИИ ЭК РКНПК МЗ РФ,  
к.б.н.



 С.А. Левашова