

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
Институт биологии развития
им. Н.К.Кольцова РАН
(ИБР РАН)

ул. Вавилова, д. 26, Москва, 119334
Тел. 8-499-135-64-83, Факс 8-499-135-33-22

E-mail: info@idbras.ru
<http://idbras.ru>

ОКПО 02699062, ОГРН 1027700450800,
ИНН 7736044850 / КПП 773601001

На № 04.02.2021 от № 12506/01-25

УТВЕРЖДАЮ

Врио заместителя директора
по научной работе
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН, д.б.н.



Н.П. Шарова

«04» февраля 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы **Вороновой Анастасии Денисовны** на тему: «**Обкладочные и нейральные стволовые/прогениторные клетки обонятельной слизистой оболочки млекопитающих в экспериментальной терапии посттравматических повреждений спинного мозга**», представленной к защите в диссертационный совет Д 001.004.01 при ФГБНУ НИИМЧ на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Травматические повреждения спинного мозга являются одной из самых распространенных причин инвалидизации в мире и частой причиной смертности. В первые несколько дней после травмы уровень смертности составляет 4-17%. На сегодняшний день более чем 20 миллионов человек живут с последствиями травм спинного мозга. В результате травм спинного мозга у пациентов происходят нарушения чувствительности и функции органов малого таза, параличи, развиваются посттравматические кисты, которые препятствуют проведению нервных импульсов и восстановлению нервной ткани после повреждения. Применяемые в клинической практике методы терапии травматических повреждений спинного мозга не приводят к желаемым результатам, так как не способствуют регенерации спинного мозга. В связи с этим, актуальной задачей является поиск новых подходов к лечению травм спинного мозга. Многообещающим направлением рассматривается клеточная терапия. Однако на данный момент продолжается активный поиск оптимального клеточного препарата для регенерации нервной ткани. Учитывая

вышесказанное, актуальность работы Вороновой А.Д. не вызывает сомнений.

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

В работе А.Д. Вороновой разработаны оригинальные протоколы получения обогащенных культур обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток из обонятельной слизистой оболочки крыс и человека. Автором впервые показано, что культивирование в селективной среде с добавлением гидрокортизона позволяет получить культуры с 97%-м содержанием GFAP/p75NTR⁺-положительных обкладочных клеток на 3-4-м пассажах.

Вороновой А.Д. впервые были трансплантированы обкладочные и нейральные стволовые/прогениторные клетки обонятельной слизистой оболочки и их комбинация в посттравматические кисты спинного мозга крыс. Показано, что трансплантированные в посттравматические кисты спинного мозга обкладочные клетки крыс и человека способствуют улучшению динамики двигательной активности задних конечностей крыс в течение 4 недель после трансплантации. Автором установлено, что при трансплантации обкладочных клеток в посттравматические кисты спинного мозга через 4 недели происходит достоверное уменьшение их объема по данным магнитно-резонансной томографии, а у 10% животных, которым были трансплантированы обкладочные клетки, наблюдали полное исчезновение кист.

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

Диссертационное исследование основано на оценке эффективности полученных клеточных препаратов после трансплантации в спинной мозг крыс. Методика моделирования посттравматических кист спинного мозга и протоколы получения обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток из обонятельной слизистой оболочки крыс и человека являются воспроизводимыми.

Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных методов исследования: получение первичных культур клеток млекопитающих и их культивирование, гистологические, гистохимические, моделирование травм спинного мозга, магнитно-резонансная томография. Статистическая обработка данных проведена адекватно их качественно-количественным характеристикам. Сформулированные автором выводы достоверны, логически следуют из фактических результатов, полученных в ходе

исследования, и отражают их в полном объеме. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций сомнений не вызывает.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные в исследовании теоретические данные расширяют представления о возможностях применения клеток обонятельной слизистой оболочки в клеточной терапии травм спинного мозга. Результаты об улучшении двигательной активности задних конечностей крыс и уменьшении размеров кист при трансплантации обкладочных клеток крыс и человека в посттравматические кисты спинного мозга актуальны и в перспективе могут быть использованы в клинической практике. Данные клетки могут получены из обонятельной выстилки пациента с посттравматическим повреждением спинного мозга и после наращивания в культуре могут быть трансплантированы этому же пациенту. Клеточная терапия с использованием обкладочных клеток может быть рассмотрена в комбинации с другими методами лечения и как самостоятельный подход.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Результаты работы целесообразно использовать в образовательном процессе при подготовке клеточных биологов.

Разработанные протоколы получения обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток из обонятельной слизистой оболочки и выявленные положительные результаты по их применению могут быть использованы в доклинических испытаниях клеточных препаратов для терапии травм спинного мозга.

Результаты исследования используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

Личное участие автора

Автор самостоятельно проанализировал отечественную и зарубежную литературу по теме исследования, самостоятельно разработал протоколы получения клеток из обонятельной слизистой оболочки, проводил моделирование посттравматических повреждений спинного мозга крыс, иммуногистохимическое и иммуноцитохимическое исследование, эксперименты по трансплантации и эффективности клеточных препаратов. Автор также самостоятельно выполнил анализ и статистическую обработку полученных результатов и подготовку публикаций к печати.

Диссертация построена по традиционной схеме. Работа написана хорошим литературным языком, текст изложен на 141 странице машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 35 рисунками и микрофотографиями хорошего качества, включает 17 таблиц. Библиографический указатель состоит из 262 российских и зарубежных источников. В обзоре помимо основополагающих работ, представлены работы последних 5 лет.

Выводы диссертации логично вытекают из текста работы и соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат и публикации в полной мере отражают основные положения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 8 статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. Результаты доложены на 7 всероссийских и международных конференциях.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

Заключение

Диссертационная работа Вороновой А.Д. «Обкладочные и нейральные стволовые/прогениторные клетки обонятельной слизистой оболочки млекопитающих в экспериментальной терапии посттравматических повреждений спинного мозга», выполненная под руководством академика РАН, профессора, д.м.н. Чехонина В.П. и к.б.н. Степановой О.В. является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача: изучение эффективности клеточной терапии посттравматических повреждений спинного мозга при трансплантации обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток, полученных из обонятельной слизистой оболочки крыс и человека.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение, как для клеточной биологии, так и для регенеративной медицины.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Вороновой А.Д. соответствует требованиям пп.9-14 постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. № 842 в редакции от 28.08.2017 г. № 1024, 01.10.2018 № 1168, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор

заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. Отзыв на диссертацию Вороновой Анастасии Денисовны обсужден и одобрен на заседании объединенного семинара профильных лабораторий по специальностям 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология ФГБУН Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН (протокол №45 от 4 февраля 2021 года).

Отзыв составили:

ВРИО Директора ИБР РАН, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Васильев Андрей Валентинович

Старший научный сотрудник лаборатории проблем регенерации ИБР РАН, кандидат медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия

Кузнецова Алла Викторовна

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26

Тел. 8(499)135-33-22

info@idbras.ru <http://idbras.ru>

Подписи. Васильева А.В. и Кузнецовой А.В. заверяю:

Ученый секретарь ИБР РАН

кандидат биологических наук, доцент



Хабарова Марина Юрьевна