

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д 001.004.01 НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «25» февраля 2021 г. № 2
о присуждении Вороновой Анастасии Денисовне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Обкладочные и нейральные стволовые/прогениторные клетки обонятельной слизистой оболочки млекопитающих в экспериментальной терапии посттравматических повреждений спинного мозга» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 24 декабря 2020 года (протокол №29) диссертационным советом Д 001.004.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3), сайт организации www.morfolhum.ru, созданном в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Воронова Анастасия Денисовна, 1993 года рождения, в 2015 году окончила биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по специальности «Физиология». В 2019 г. закончила аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Воронова А.Д. является младшим научным сотрудником отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр

психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на базе ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России.

Научные руководители: 1. **Чехонин Владимир Павлович** - доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, вице-президент РАН, заведующий кафедрой медицинских нанобиотехнологий медико-биологического факультета ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, 2. **Степанова Ольга Владиславовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии ФГБУ «НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России».

Официальные оппоненты: 1. **Парфенова Елена Викторовна**, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора, директор института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации», 2. **Исаев Николай Константинович**, доктор биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - ФГБУН Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН. В положительном отзыве, подписанном Васильевым Андреем Валентиновичем, ВРИО Директора ИБР РАН, член-корреспондентом РАН, доктором биологических наук, и Кузнецовой Аллой Викторовной, старшим научным сотрудником лаборатории проблем

регенерации ИБР РАН, кандидатом медицинских наук, указано, что диссертационная работа Вороновой А.Д. соответствует требованиям пп.9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г.№842 в редакции от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

По теме диссертации соискатель имеет 18 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, из них 8 статей 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, 9 публикаций – в материалах конференций. Все 18 работ Вороновой А.Д. написаны в соавторстве, в 8 из них соискатель является первым автором. Общий объем публикаций составляет 65 страниц. Получен 1 патент на изобретение.

Наиболее значимые работы:

1. Voronova A.D., Stepanova O.V., Valikhov M.P., Chadin A.V., Dvornikov A.S., Reshetov I.V., Chekhonin V.P. Preparation of Human Olfactory Ensheathing Cells for the Therapy of Spinal Cord Injuries // Bull Exp Biol Med. — 2018. — V. 164. — №4. — P. 523-7.
2. Stepanova O.V., Voronova A.D., Chadin A.V., Valikhov M.P., Abakumov M.A., Reshetov I.V., Chekhonin V.P. Isolation of Rat Olfactory Ensheathing Cells and Their Use in the Therapy of Posttraumatic Cysts of the Spinal Cord // Bull Exp Biol Med. — 2018. — V. 165. — №1. — P. 132-5.
3. Voronova A.D., Stepanova O.V., Valikhov M.P., Chadin A.V., Semkina A.S., Abakumov M.A., Reshetov I.V., Chekhonin V.P. Comparison of the Efficiency of Transplantation of Rat and Human Olfactory Ensheathing Cells in Posttraumatic Cysts of the Spinal Cord // Bull Exp Biol Med. — 2019. — V. 167. — P. 536–40.

4. Stepanova O.V., Voronova A.D., Chadin A.V., Valikhov M.P., Semkina A.S., Karsuntseva E.K., Chekhonin I.V., Shishkina V.S., Reshetov I.V., Chekhonin V.P. Efficiency of Human Olfactory Ensheathing Cell Transplantation into Spinal Cysts to Improve Mobility of the Hind Limbs // Stem Cells Dev. — 2019. — V. 28. — №18. — 1253-1263.

Недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации отсутствуют.

На автореферат поступил отзыв: от кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр акушерства гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России **Р.А. Полтавцевой**. Отзыв положительный, критические замечания отсутствуют. Отзыв содержит информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном и методическом уровне, выводы диссертации достоверны и полностью соответствуют поставленным задачам.

Выбор ведущей организации обоснован тем, что в лаборатории проблем регенерации ИБР РАН в течение многих лет проводятся фундаментальные исследования, посвященные изучению функциональных и молекулярно-биологических особенностей регенеративных процессов, в том числе нервной системы. **Выбор официальных оппонентов обоснован** тем, что **Парфенова Елена Викторовна**, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора, директор института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации», является одним из ведущих специалистов в области регенеративной медицины, а именно получения стволовых клеток и изучения эффективности

их трансплантации. **Исаев Николай Константинович**, доктор биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», является ведущим специалистом в области моделирования и изучения механизмов заболеваний центральной нервной системы, в том числе травматических повреждений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании проведенных соискателем исследований решена актуальная научная задача – получены культуры обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток обонятельной слизистой оболочки крыс и человека, и оценена эффективность их применения в терапии экспериментальных посттравматических повреждениях спинного мозга. **Установлено**, что максимальное содержание обкладочных клеток с фенотипом GFAP/p75NTR⁺ наблюдается на 3-4-м пассажах культивирования в селективной среде, а нейральных стволовых/прогениторных клеток в составе нейросфер – на 2-е сутки культивирования. При трансплантации клеточных препаратов обкладочных, нейральных стволовых/прогениторных клеток млекопитающих и их комбинации достоверное улучшение двигательной активности задних конечностей крыс в течение 4 недель наблюдений по результатам ВВВ-теста наблюдается только при трансплантации обкладочных клеток крыс в посттравматические кисты спинного мозга. При анализе объемов кист спинного мозга экспериментальных животных до и после трансплантации клеточных препаратов с помощью магнитно-резонансной томографии было выявлено достоверное уменьшение размеров кист и их исчезновение у 10% животных наблюдали только при использовании обкладочных клеток.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные данные об эффективности клеток обонятельной слизистой оболочки млекопитающих при посттравматических повреждениях спинного мозга расширяют представления о возможностях применения клеточной

терапии для стимуляции регенерации при посттравматических повреждениях центральной нервной системы.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: изолирование и культивирование клеток млекопитающих, иммуноцитохимическое исследование, морфометрические методы, световая, флуоресцентная микроскопия; моделирование посттравматических повреждений спинного мозга; трансплантация клеточных препаратов; изучение терапевтической эффективности с помощью шкалы открытого поля ВВВ и данных магнитно-резонансной томографии; проведены анализ, обобщение, критическая оценка и статистическая обработка данных.

Изложены достоверные результаты оптимизации протоколов получения обкладочных и нейрональных стволовых/прогениторных клеток из обонятельной слизистой оболочки млекопитающих, данные иммунофенотипического исследования полученных клеток и оценки их эффективности при трансплантации в спинной мозг в хроническую фазу травматического повреждения.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики обосновывается тем, что трансплантация обкладочных клеток слизистой оболочки носа в посттравматические кисты спинного мозга способствует восстановлению двигательной активности задних конечностей экспериментальных животных и уменьшению размеров кист. В перспективе культуру обкладочных клеток, полученных из обонятельной слизистой оболочки млекопитающих, целесообразно рассматривать в качестве основы для разработки клеточного препарата, стимулирующего регенеративные процессы у пациентов с посттравматическими повреждениями спинного мозга.

Результаты настоящего исследования используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины

им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость, использованы современные приборы и специализированные программы анализа: флуоресцентный микроскоп Leica (модель DM 2500) с программным обеспечением LAS v.6 (Leica Microsystems), томограф ClinScan фирмы Bruker (США) и программный пакет DICOM view MultiVox, флуоресцентный микроскоп Axio Observer Z.1 («Zeiss») с цифровой видеокамерой AxioCam HRC («Zeiss») и программное обеспечение Axiovision 3.1 («Zeiss»).

Теория исследования построена на известных данных экспериментов *in vitro* и *in vivo*, согласно которым обкладочные и нейральные стволовые/прогениторные клетки, полученные из разных источников, способствуют регенерации нервной ткани. Обкладочные клетки секретируют разнообразные нейротрофические факторы, которые способствуют нейропротекции, астроглиозу, регенерации и миелинизации аксонов, ангиогенезу и нейропластичности, а также осуществляют фагоцитоз дебриса в области повреждения, а нейральные стволовые/прогениторные клетки способны дифференцироваться в нейроны, астроциты и олигодендроциты. Известно, что эти клетки содержатся в слизистой оболочке обонятельной зоны носа; **идея базируется** на анализе данных других авторов о трансплантации обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток в зону травматического повреждения спинного мозга, однако не существует единого и оптимального протокола для получения этих клеток из обонятельной слизистой оболочки. Отсутствуют сведения о возможности их использования при посттравматических кистах спинного мозга.

Использовано сравнение собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по тематике, посвященной изучению клеток обонятельной слизистой оболочки в терапии

посттравматических повреждений спинного мозга. Установлено совпадение полученных результатов с данными, представленными в независимых источниках по изучаемой тематике, выявлен ряд фенотипических особенностей обкладочных и нейральных стволовых/прогениторных клеток, показано, что при введении обкладочных клеток в кисты спинного мозга улучшается двигательная активность задних конечной у экспериментальных животных и уменьшается объем кистозных полостей в области повреждения.

Личный вклад соискателя состоит в: анализе литературы и определении научной проблемы, планировании исследования и проведении экспериментов, статистической обработке данных, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

На заседании 25 февраля 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Вороновой Анастасии Денисовны ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за – 15, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01
профессор д.м.н.

Л.М. Михалева

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01
д.б.н.

«26» февраля 2021 г.



А.М. Косырева