

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования Первый Московский государственный медицинский  
университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения  
Российской Федерации (Сеченовский Университет)**

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научно-исследовательской работе  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ  
им. И. М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет)  
доктор медицинских наук, профессор



М.И. Секачева

« 18 » января 2019 г.

**ОТЗЫВ**

ведущей организации Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) о научно-практической значимости диссертации Поляковой Маргариты Вячеславовны «Использование мезенхимных стромальных стволовых клеток для минимизации последствий действия облучения экспериментальных животных», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология.

**Актуальность темы исследования, ее связь с планами медицинских отраслей науки и народного хозяйства.**

Актуальность работы обусловлена необходимостью разработки эффективных методов терапии, снижающих патогенные последствия воздействия ионизирующего излучения на организм в условиях все возрастающего риска техногенных катастроф на предприятиях атомной энергетики и других сферах народного хозяйства, использующих энергию атома.

В последние годы интенсивно разрабатываются клеточные технологии, в том числе по применению мультипотентных мезенхимных стромальных стволовых клеток (ММСК) костного мозга для устранения последствий действия на организм ионизирующего облучения. Эффективность применения ММСК показана в исследованиях на гемопоэтических клетках и отдельных органах после воздействия высокой дозы радиации. Вместе с тем, до сих пор остаются неясными механизмы терапевтического действия в этих условиях ММСК.

В качестве одного из возможных кандидатов на роль активного участника в реализации этого эффекта могут быть внеклеточные везикулы, секретируемые различными клетками организма, в том числе - ММСК. Показано, что их внеклеточные везикулы являются переносчиками многих биологически активных веществ, необходимых для функционирования клеток и реализации процессов межклеточной коммуникации. Исследование эффектов применения ММСК, секретируемых ими внеклеточных везикул, а также механизмов этих эффектов, с целью лечения последствий воздействия ионизирующего излучения на организм, является весьма актуальным.

Диссертация М.В. Поляковой выполнена в соответствии с тематикой и планом научной деятельности Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

**Новизна исследования, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Работа М.В. Поляковой носит фундаментальный характер.

В работе впервые в эксперименте выявлены и сопоставлены результаты двух видов лечения последствий острого облучения животных (мышей линии С57В1/6J) с использованием: - ММСК костного мозга человека и - секретируемых ими внеклеточных везикул на разных структурно-функциональных уровнях организма: молекулярно-клеточном (исследование субфракционного состава сыворотки крови, подсчет лейкоцитарной формулы крови, оценка содержания субпопуляций лимфоцитов), органном (гистологическое исследование селезенки, поджелудочной железы, печени), и организменном (оценка изменения прироста массы тела и двигательной активности животных). Оценка двух указанных выше видов воздействия на облученный организм мышей показала, что выраженность эффекта от введения ММСК костного мозга человека и внеклеточных везикул, выделенных из культуральной жидкости этих клеток, неодинакова на разных уровнях организации. На органном уровне большая эффективность выявлена у ММСК костного мозга. В отличие от этого, внеклеточные везикулы в большей мере способствовали нормализации содержания форменных элементов крови. Об указанных различиях эффектов вводимых препаратов (ММСК и внеклеточных везикул) свидетельствует факт наличия характерных изменений субфракционного состава сыворотки крови животных, что дало возможность автору работы провести комплексную оценку изменений, реализующихся на разных уровнях организма.

М.В. Поляковой впервые в эксперименте выявлена значимая роль именно внеклеточных везикул в реализации терапевтического эффекта ММСК костного мозга. Возможными механизмами такого действия ММСК являются восполнение утраченного клеточного состава в поврежденном органе, а также - секреция цитокинов непосредственно в межклеточное пространство. Важную роль играет выделение ММСК внеклеточных везикул с содержащимися в них биологически активными веществами. Это экспериментально доказано фактом получения сходных по эффективности результатов лечения облученных животных как при введении им внеклеточных везикул из ММСК костного мозга человека, так и самих ММСК.

Автором диссертации охарактеризованы параметры внеклеточных везикул стволовых клеток различного происхождения: ММСК костного мозга и жировой ткани человека. М.В. Поляковой впервые в эксперименте выявлены (методом лазерной корреляционной спектроскопии) достоверные различия гидродинамических радиусов внеклеточных везикул в диапазоне 68-166 нм. Учитывая, что размер внеклеточных везикул отражает различия в составе переносимых ими веществ, этот показатель следует считать существенным при описании процесса везикулярной секреции клеток. Автор работы объясняет указанные различия размеров внеклеточных везикул, главным образом, разными тканевыми источниками секретирующих их ММСК.

**Обоснованность использованных методов, а также полученных результатов и положений диссертации.**

Диссертационная работа М. В. Поляковой выполнена с использованием современных методов исследования. Полученные автором фактические результаты подтверждают основные положения диссертации, выносимые на защиту.

В соответствии с поставленными в работе целью и основными задачами автором проведено исследование эффектов применения ММСК, секретируемых ими внеклеточных везикул, а также механизмов этих эффектов, с целью разработки методов снижения тяжести последствий воздействия ионизирующего излучения на организм.

Выбор автором темы работы, ее цели, задач, методов исследования, формулировка основных положений обоснованы результатами анализа данных современной зарубежной и отечественной литературы, степенью разработанности проблемы, достоинств и недостатков последних достижений клеточных технологий и возможностей их использования для ликвидации последствий воздействия радиации на организм.

Положения, вынесенные на защиту, и выводы базируются на достаточном объеме проведенных исследований. В работе задействовано 127 животных, из них 117 самцов мышей линии С57В1/6J были использованы в качестве объекта моделирования эффектов облучения и терапии, 10 беспородных крыс использовали для отработки методик выделения и характеристики внеклеточных везикул из культуральной жидкости ММСК жировой ткани.

М.В. Поляковой использованы современные и адекватные методы статистической обработки данных. Сопоставление результатов исследования М.В. Поляковой с работами других авторов дают основания считать, что полученные в ее работе экспериментальные данные являются новыми и достоверными.

Выводы, теоретические положения и практические рекомендации диссертационной работы М.В. Поляковой основаны на достаточном объеме исследований, что в совокупности с использованием современных методов исследования свидетельствует в пользу их достоверности и обоснованности.

Принципиальных замечаний по работе нет. Есть предложения, не снижающие научной значимости исследования: - было бы целесообразно охарактеризовать полученные автором микровезикулы с использованием прецизионных маркеров, например, CD63, CD81, CD82 и др.; - для оценки размеров везикул, наряду с электронной, полезно было бы использовать и атомно-силовую микроскопию.

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

Выявленные Поляковой М.В. в эксперименте эффекты применения ММСК костного мозга человека и везикул, продуцируемых ими, в отношении изменений физиологических показателей животных, облученных в сублетальной дозе, имеют существенное теоретическое и практическое значение для раскрытия и понимания механизмов реализации лечебного действия ММСК с помощью выделяемых ими внеклеточных везикул.

Дальнейшее развитие представлений о механизмах действия ММСК костного мозга и роли везикулярной секреции в реализации этих механизмов в облученном организме, сформулированных в диссертационной работе Поляковой М.В., внесет существенный вклад в расширение практического применения методов клеточных технологий в регенеративной медицине чрезвычайных ситуаций, в том числе - в области разработки новых способов борьбы с последствиями лучевой болезни.

Результаты исследования отражены в 10 научных работах. Из них: 7 статей в рецензируемых журналах (5 - из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ) и 3 тезиса докладов на международных конференциях.

При анализе диссертации Поляковой М.В. принципиальных замечаний не возникло. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Выводы диссертационного исследования обоснованы и отражают полученные результаты. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а тема исследования – специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

#### **Оценка языка и стиля диссертации**

Работа изложена на 137 страницах машинописного текста, написана по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и библиографический указатель, включающий работы на русском (100) и иностранном (164) языках.

Диссертационная работа написана хорошим литературным языком, демонстрирует знание ее автором отечественной и зарубежной литературы, посвященной теме исследования. Результаты работы изложены последовательно и логично, хорошо иллюстрированы.

## **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.**

Результаты, основные теоретические положения, выводы и практические рекомендации диссертационной работы М.В. Поляковой внедрены в учебный процесс на ветеринарно-биологическом факультете ФГБОУ ВО «МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина» по дисциплинам «Радиобиология и рентгенология», «Актуальные проблемы радиобиологии и биофизики», «Молекулярная биология», «Моделирование биологических процессов» (бакалавры и магистры биологии) (справка от 29.08.2018). Они могут быть использованы в научных лабораториях, исследующих патогенные последствия воздействия ионизирующего излучения на организм и методы их устранения, а также быть полезными в лечебных учреждениях, разрабатывающих проблемы лечения пациентов с острыми и отдаленными последствиями облучения.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертационная работа Поляковой Маргариты Вячеславовны «Использование мезенхимных стромальных стволовых клеток для минимизации последствий действия облучения экспериментальных животных» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, в которой содержится новое решение важной научной задачи по оценке терапевтических эффектов мультипотентных мезенхимных стромальных клеток и секретируемых ими внеклеточных везикул на разных структурно-функциональных уровнях организма животных, подвергнутых действию острого гамма-облучения, показана значимая роль именно везикул в механизме реализации этих эффектов.

Диссертация соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 г.), а ее автор, Полякова Маргарита Вячеславовна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – «патологическая физиология».

Отзыв составлен заведующим кафедрой патофизиологии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), член-корр. РАН, д.м.н., профессором П.Ф. Литвицким.

Отзыв заслушан и утвержден на научно-методической конференции сотрудников кафедры патофизиологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), протокол № 8 от 17.01.2019 г.

**Заведующий кафедрой патофизиологии  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский университет)  
член-корр. РАН, д.м.н., профессор**

**Телефон: 8(499) 622-96-47.**

**Электронный адрес: [litvicki@mta.ru](mailto:litvicki@mta.ru)**

**Почтовый адрес: Москва, 119991, ул. Трубецкая, д.8, стр. 1**

**Литвицкий Петр Францевич**

