

ОТЗЫВ

официального оппонента руководителя Центра биомедицинских технологий, заведующей кафедры регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии МБУ ИНО Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» доктора медицинских наук, доцента Астрелиной Татьяны Алексеевны на диссертационную работу Капранова Николая Михайловича «Взаимодействие мультипотентных мезенхимных стромальных клеток с лимфоцитами», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Актуальность темы диссертации

Основные успехи регенеративной медицины связаны с развитием клеточных технологий. Известно, что мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) обладают уникальными свойствами, благодаря чему им нашли применение в клинических исследованиях, посвященных как регенеративной медицине, так при иммунологическим осложнениям, связанных с трансплантацией органов. На сегодняшний день проводится большое количество клинических исследований, в которых МСК используют в качестве иммуносупрессорной терапии при острой или хронической реакции трансплантат против хозяина. Описаны механизмы иммуномодулирующего действия МСК. Взаимодействие МСК с клетками крови и тканями может значительно изменить их фенотипические свойства, поэтому Н.М. Капрановым предложена *in vitro* система, моделирующая это взаимодействие.

Представленная диссертационная работа актуальна и отвечает на важные вопросы для клеточной терапии: какие МСК нужно применять при лечении и эффективны ли они в предотвращении или ингибировании иммунологического ответа. Понимание механизма действия МСК в

организме пациента позволит более эффективно их применять в клинической практике.

Научная новизна исследования

Известно, что МСК считались иммунопривилегированными клетками, однако полученные в результате в работе Н.М. Капранова говорят об обратном. При попадании в организм и при взаимодействии с иммунными клетками крови, в частности с лимфоцитами, МСК начинают в незначительной степени экспрессировать HLA-DR. Обработка интерфероном гамма усиливает этот эффект, что приводит к значительной иммуногенности МСК. Автором было показано, что этот эффект не зависит от донора клеток – и аллогенные, и аутологичные МСК становятся при взаимодействии с лимфоцитами иммуногенными. Логично предположить, что эффективность применения МСК будет зависеть от совместимости пары донор реципиент, а наиболее предпочтительным будет использование для терапии аутологичных МСК.

В процессе выполнения диссертационной работы детально описана динамика изменения субпопуляций Т-лимфоцитов после взаимодействия с МСК. Интерес представляет тот факт, что обработанные интерфероном гамма МСК воздействуют на лимфоциты также, как необработанные. Капрановым Н.М. обнаружен критерий, позволяющий выявить более эффективные МСК. На основании этого критерия на большой выборке доноров костного мозга выделены две группы МСК – с высоким иммуносупрессорным потенциалом и менее иммуногенным, и с низким иммуносупрессорным потенциалом и более подверженным элиминации.

Определенную практическую ценность имеет показанная диссертантом принципиальная возможность осуществить индивидуальный подбор МСК для применения в терапии.

Обоснованность используемых методов

В работе использованы современные методы, применяемые в биологических исследованиях. Культивирование мезенхимных стромальных

клеток, выделение мононуклеаров периферической крови проводили по стандартным протоколам. В качестве основного метода исследования была выбрана проточная цитофлуориметрия – метод позволяющий определить наличие различных антигенов на поверхности отдельных клеток. Данный метод широко используется в исследованиях при изучении лимфоцитов, так и МСК.

Достоверность результатов и обоснованность выводов

Достоверность полученных результатов не вызывают сомнений, так как в исследование *in vitro* включено 27 доноров костного мозга для изучения свойств МСК. Исследования проведены в необходимом объеме, статистический анализ полученных результатов подтверждает их значимость и достоверность. Положения, выносимые на защиту, научно обоснованы, подтверждены полученными результатами, имеют значимый как прикладной, так и фундаментальный характер. По каждой из глав раздела «Результаты и обсуждения» сделаны логичные и обоснованные выводы, которые отвечают на поставленные перед исследователем задачи. Выводы и практические рекомендации сделаны в соответствии с полученными результатами.

Практическая значимость полученных результатов

Большое практическое значение имеет определение то, что МСК становятся иммуногенными после взаимодействия как с неактивированными, так и с активированными лимфоцитами, и предпочтительным является использование для терапии иммунологических осложнений аутологичных – «своих» МСК. Наблюдение о наличии двух различных групп свидетельствует о значимо варьирующих свойствах МСК, что указывает на необходимость подбора для терапии наиболее эффективных МСК.

Структура диссертации

Диссертация Н.М. Капранова изложена в традиционном стиле на 137 страницах машинописного текста, оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ и состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), заключения, выводов, списка

литературы, включающего 191 источника, из которых 4 на русском и 187 на английском языке, списка сокращений и условных обозначений. Работа содержит 21 таблицу и 38 рисунков. В тексте рукописи детально и обоснованно изложены все выполненные аспекты работы.

Во введении к диссертационной работе обоснованы актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, а также сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, и приведена структура работы.

Обзор литературы представлен в достаточном объеме и написан, как и вся диссертация, хорошим литературным языком. Стиль изложения позволяет получить образное впечатление о современном состоянии темы настоящего диссертационного исследования. Методично изложены сведения об МСК и субпопуляциях лимфоцитов. В первой части обзора приведены данные о характеристиках МСК и опыте их клинического применения в регенеративной медицине и при иммунологических осложнениях. Далее приведены данные о том, как на свойства МСК можно повлиять обработкой интерфероном гамма. В следующих разделах этой главы диссертации автором приведены общие понятия о дифференцировке Т-лимфоцитов, а также то, к каким изменениям приводит взаимодействие лимфоцитов и МСК.

В главе **«Материалы и методы»** описаны характеристики 27 доноров костного мозга, протоколы, согласно которым выполнялось культивирование МСК, получение и активация мононуклеаров периферической крови, обработка образцов МСК интерфероном гамма, и сокультивирование различных образцов МСК с мононуклеарами. Детально описаны стратегии цитофлуориметрического анализа как МСК, так и лимфоцитов. Все вышперечисленное позволяет воспроизвести выполненные в рамках данной работы эксперименты. Далее в этой главе детально описаны методы, применяемые для статистической обработки полученных результатов.

Первая часть главы **«Результаты и обсуждение»** посвящена изучению иммунофенотипа МСК. В ней описана динамика изменения экспрессии

антигенов на поверхности МСК после взаимодействия с лимфоцитами. Также автором была исследована поверхностная экспрессия HLA-ABC и HLA-DR – молекул главного комплекса гистосовместимости первого и второго классов соответственно.

Вторая часть этой главы содержит результаты определения субпопуляционного состава активированных и неактивированных лимфоцитов после взаимодействия с МСК. Капрановым Н.М. исследованы различные субпопуляции клеток памяти, эффекторные и наивные Т-клетки. Кроме того выполнено исследование динамики экспрессии маркеров активации Т-клеток.

В третьем разделе главы «Результаты и обсуждение» описаны изменения, происходящие с МСК после обработки интерфероном гамма с последующим культивированием с активированными и неактивированными лимфоцитами. Далее следует детальное сравнение эффекта, оказываемого на лимфоциты обработанными и необработанными МСК.

После это диссертантом проведено сравнение влияния аллогенных и аутологичных лимфоцитов на свойства МСК, не выявившее значимых отличий.

В заключительной части главы «Результаты и обсуждение» приведено описание двух групп мезенхимных стромальных клеток, по-разному влияющих на аллогенные по отношению к ним лимфоциты.

Каждый раздел этой главы заканчивается обсуждением полученных результатов, в котором приводится подробное описание. Обращает на себя внимание безупречная логичность и убеждающая обоснованность интерпретации результатов проведенных исследований.

В **заключении** подводятся итоги проведенных исследований, и объединяет все полученные в работе результаты, логично приводит к важным как с фундаментальной, так и с практической стороны выводам.

Выводы вполне логично вытекают из результатов диссертационной работы и в достаточной мере соответствуют цели и поставленным задачам проведенного научного исследования.

Диссертация написана без грамматических и стилистических неточностей, изложена хорошим, образным научным языком.

По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале индексируемом в researchgate.net.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные диссертантом научные положения хорошо обоснованы. При этом они умело сопоставляются с современными данными соответствующей научной литературы по теме исследования. Благодаря четкой формулировке цели и задач исследования, удалось достичь основной цели. Исследования проведены в необходимом объеме, статистический анализ полученных результатов подтверждает их значимость и достоверность. Положения, выносимые на защиту, научно обоснованы. Выводы и практические рекомендации сделаны в соответствии с полученными результатами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Капранова Николая Михайловича «Взаимодействие мультипотентных мезенхимных стромальных клеток с лимфоцитами» является законченной научно-квалификационной работой, посвященной решению актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для гематологии. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертационная работа Н.М. Капранова соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09. 2013

г. № 842 (в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а ее автор заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

Руководитель Центра биомедицинских технологий,
заведующая кафедрой регенеративной медицины,
гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом
педиатрии МБУ ИНО Федерального государственного
бюджетного учреждения «Государственный научный центр
Российской Федерации –Федеральный медицинский
биофизический центр имени А.И. Бурназяна»
доктор медицинских наук, доцент

Т.А. Астрелина

Подпись Астрелиной Татьяны Алексеевны заверяю:

Ученый секретарь – заведующий организационно методическим отделом
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна»,
кандидат медицинских наук



Е.В. Голобородько

Почтовый адрес: 123098, Москва, ул. Маршала Новикова, дом 23

Телефон: +7(499)190-85-55, Электронная почта: Адрес в сети интернет:
<http://fmbafmbc.ru>

« 27 » марта 2020 г.