

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**о диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Джауари Сталика Станиславовича**  
**на тему: «Изучение нейропротекторных свойств секретома мезенхимных**  
**стромальных клеток на модели интрацеребральной посттравматической**  
**гематомы (геморрагического инсульта)»**  
**по специальностям 1.5.5 – «Физиология человека и животных» и**  
**3.3.6 – «Фармакология, клиническая фармакология».**

**Актуальность избранной темы**

Диссертация Джауари Сталика Станиславовича посвящена изучению нейропротекторных свойств субстанции на основе секретома мезенхимных стромальных клеток на модели геморрагического инсульта.

Геморрагический инсульт является одной из наиболее частых по значимости причин смерти во всем мире, стандартизированный по возрасту коэффициент смертности от геморрагического инсульта составляет 87 случаев на 100 000 населения в год. По данным Всероссийского центра профилактической медицины от этой патологии умирает 25% мужчин и 38% женщин. Половина смертельных случаев приходится на первые 48 часов после первых клинических симптомов, оставшиеся в живых часто остаются с тяжелой инвалидностью, и только менее 40% пациентов возвращают функциональную независимость.

Разработка новых подходов к лечению геморрагического инсульта актуальна, поскольку существующие лекарственные препараты обеспечивают преимущественно симптоматическую терапию и низкую эффективность. В настоящее время применяют препараты, направленные на отдельные патогенетические звенья внутримозгового кровоизлияния, однако, патогенез данной сосудистой катастрофы сложен и содержит в себе нарушение регуляции процессов нейровоспаления, окислительно-восстановительного баланса вплоть до развития окислительного стресса,

глутамат-опосредованную эксайтотоксичность, токсическое действие компонентов крови (ферроптоз, токсические эффекты тромбина) и другие механизмы, приводящие к развитию вторичного повреждения нервной ткани. Поэтому особую актуальность представляет разработка эффективных и безопасных терапевтических методов, оказывающих комплексное воздействие на большинство из звеньев патогенеза геморрагического инсульта.

На сегодняшний день установлена фундаментальная роль стволовых клеток в механизме регенерации поврежденных тканей. И изучение ключевых факторов регенерационного процесса и точных механизмов восстановления поврежденных тканей и, как следствие, функций организма привлекают специалистов уже в течение нескольких десятилетий. Известно, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) различного происхождения, включая костный мозг, жировую ткань и некоторые другие источники, могут быть хорошими кандидатами для получения продуктов их секретомы. Научно-практический интерес в этом направлении во всем мире возрастает. Особый интерес представляет терапевтический потенциал стволовых клеток костного мозга и жировой ткани в отношении процессов восстановления после инсульта, при демиелинизации, болезни Паркинсона, травмы спинного мозга. Имеются доказательства того, что компоненты секретомы МСК, особенно везикулярные, влияют на восстановление тканей лучше, чем сами клетки.

Бесклеточный препарат на основе секретомы МСК позволяет реализовать задачу комплексной терапии геморрагического инсульта, так как содержит необходимый набор нейротрофических, проангиогенных, противовоспалительных факторов, способных действовать синергично на различные патогенетические звенья. Данная диссертационная работа посвящена оценке эффективности секретомы МСК на модели геморрагического инсульта и изучению механизмов действия, опосредующих его эффекты и потому, несомненно, актуальна и является логическим

продолжением исследований терапевтического потенциала секретома МСК, проводимых в последнее время на факультете фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова.

### **Основные научные результаты, их новизна**

В ходе диссертационной работы был охарактеризован состав секретома МСК и предложены подходы к его стандартизации для применения в целях нейропротекции. Получены новые данные о нейропротективных свойствах секретома МСК при оценке выживаемости, неврологического статуса животных, объемов очага повреждения на модели интрацеребральной посттравматической гематомы (геморрагического инсульта) у крыс при разных способах и режимах введения. Новизна полученных результатов подтверждается патентом на изобретение РФ (Композиция для нейропротекции и стимуляции нейрорегенерации головного мозга после повреждения, средство на ее основе, способ его получения и применения). Предложены механизмы, объясняющие нейропротекторный эффект секретома МСК и уточнены отдельные параметры его введения. Так, установлена важная роль мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и урокиназного активатора плазминогена (uPA) в реализации нейропротекторного эффекта секретома МСК. Показано влияние секретома МСК на регулирующий процессы нейровоспаления фенотип моноцитов/макрофагов. Установлена зависимость нейропротекторной активности от видоспецифичности секретома МСК на модели интрацеребральной посттравматической гематомы (геморрагического инсульта) у крыс.

### **Научно-практическая значимость работы**

Данные об эффектах секретома МСК, показанные на модели геморрагического инсульта, позволяют разработать принципиально новую стратегию фармакологической коррекции нейровоспалительных процессов. Использование бесклеточного препарата на основе кондиционированной среды, содержащей продукты секреции МСК (секретом МСК содержит как

фракцию внеклеточных везикул, так и фракцию растворимых секретиремых факторов) позволяет преодолеть некоторые ограничения клеточной терапии, а также достичь наиболее полного эффекта при терапии нарушений со сложным многоуровневым патогенезом. Полученные данные также могут быть рассмотрены в качестве пилотных при проведении доклинических испытаний оригинального нейропротекторного лекарственного препарата. Определены оптимальный временной интервал и эффективные способы введения секретома МСК, что может явиться основой для рекомендаций при составлении дизайна будущих клинических исследований препаратов секретома МСК как лекарственных средств не только при геморрагическом инсульте, но при тяжелых травмах головного мозга.

### **Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации**

Данные, представленные в диссертации Джауари С.С., основаны на достаточном объеме экспериментального материала, получены с использованием адекватных методов исследования и грамотно обработаны статистически. В работе была использована модель внутримозгового кровоизлияния во внутреннюю капсулу (*capsula interna*) правого полушария по А.Н. Макаренко. Данная модель является классической доклинической моделью геморрагического инсульта и мозговой травмы, широко применяется при оценке нейропротективных свойств новых фармакологических веществ и известных лекарственных препаратов. Экспериментальный материал представлен в виде наглядных рисунков и диаграмм. Заключение и выводы обоснованы и сформулированы убедительно и логично. Материалы вошедших в диссертацию исследований опубликованы в рецензируемых научных журналах с высоким импакт-фактором и доложены на отечественных и международных конференциях.

### **Структура диссертации**

Диссертация написана в традиционном стиле. Состоит из шести разделов, включая введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов и список

цитируемой литературы. Объем работы стандартный - 132 страницы. Текст написан хорошим научным языком, отредактирован, содержит 29 рисунков и 4 таблицы. В обзоре литературы рассмотрены феноменология и патогенез геморрагического инсульта, механизмы и этапы разрушения мозговой ткани при данном виде инсульта, кратко изложены современный алгоритм клинического ведения пациентов с геморрагическим инсультом. Более подробно изложена биохимия нейровоспаления с рассмотрением роли отдельных ключевых биохимических и клеточных звеньев с учетом баланса между провоспалительным и противовоспалительным фенотипами глиоцитов, окислительного стресса и глутаматной нейротоксичности. Обзор содержит характеристику, рассмотрены описанные в литературе данные о применении клеточной терапии МСК при инсультах, приводятся возможные ограничения клеточной терапии и материалы исследований бесклеточных субстанций на основе МСК в различных патологических процессах.

В разделе «Материалы и методы» дано исчерпывающее описание методических подходов, используемых в работе со всей необходимой экспериментальной информацией.

В разделе «Результаты» последовательно и детально описываются полученные экспериментальные данные. На первом этапе был проведен анализ состава секрета МСК, на втором – осуществлено исследование секрета на модели геморрагического инсульта, а затем последовательно – изучены морфологические, гистологические, иммунохимические, биохимические, клеточные механизмы установленного ранее *in vivo* фармакологического (нейропротективного) эффекта секрета МСК. Следует отметить удачный выбор препарата сравнения (церебролизина) на первых этапах работы, для которого (среди очень немногих нейропротекторов) показана достоверная клиническая эффективность.

«Обсуждение результатов» и «Выводы» работы логичны и отражают основные итоги проведенного исследования. В разделе «Обсуждение результатов» сформулированы основные положения диссертации. Раздел

«Выводы» полностью соответствует задачам исследования, выводы логично вытекают из полученных результатов и их анализа.

При общей положительной оценке работы С.С. Джауари при возникли следующие замечания и вопросы:

1. Используемая в диссертационном исследовании модель гемorragического инсульта (или посттравматическая интрацеребральная гематома) в своей полной форме предполагает наблюдение не менее, чем в течение 14 дней. В данной работе ряд параметров был оценен на 11 сутки после моделирования инсульта. Чем это было обусловлено? И можно ли исходя из полученных результатов в более ранние сроки, прогнозировать динамику эффектов секрета МСК в отдаленные периоды времени.

2. Известно, что одним из важных компонентов секрета МСК, по которому осуществляется его стандартизация, является мозговой нейротрофический фактор BDNF. Известно, что BDNF является наиболее распространенным фактором роста в головном мозге, который играет важную роль в поддержании физиологических процессов в нервной системе. Так, BDNF регулирует ветвление дендритов и морфологию дендритных отростков, синаптическую пластичность и долговременную потенциацию, модулирует метаболическую функцию гипоталамуса. Путь BDNF/TrkB может участвовать в поддержании нейрогенеза гиппокампа взрослых, способствуя выживанию, пролиферации и нейрональной дифференцировке нейральных стволовых клеток. Относительно недавно появились указания на то, что BDNF и его рецептор TrkB играют жизненно важную роль в опухолевой патологии. Исследования показали, что BDNF/TrkB является онкогенным не только в исходных нейрогенных опухолях, но также и в других опухолях за пределами нервной системы. В этой связи, хотелось бы услышать мнение автора об оценке безопасности секрета МСК в данном аспекте, потребует ли развитие лекарственных препаратов на основе МСК-секрета, возможно, более расширенного изучения их безопасности?

3. Имеется ли у автора информация о влиянии введения препаратов секретора МСК на интактный организм?

Указанные вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют значимости диссертационного исследования. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы. Данные грамотно статистически обработаны, их достоверность не вызывает сомнений.

### **Заключение**

Диссертация Джауари Сталика Станиславовича отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных», а именно следующим ее направлениям:

- Закономерности функционирования основных систем организма (нервной, внутренней секреции, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, репродуктивной и др.) при различных состояниях организма;
- Системная организация физиологических функций на уровне клеток, тканей, органов и целого организма;

и специальности 3.3.6 – «Фармакология, клиническая фармакология», а именно следующим ее направлениям:

- Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, геной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*;

- Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток;
- Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека;

по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5, и оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Таким образом, соискатель Джауари Сталик Станиславович вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.5 – «Физиология человека и животных» и 3.3.6 – «Фармакология, клиническая фармакология».

Дата 25.04.2024

Калинина Татьяна Сергеевна  
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник  
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и  
фармацевтических технологий», лаборатория фармакологии  
неврологических заболеваний