

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

Острые нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу (геморрагический инсульт) являются тяжелой формой поражения мозговой ткани и сопряжены с высокой летальностью и тяжелой инвалидизацией пострадавших пациентов. Отсутствие эффективных подходов к нейропротекции мозговой ткани после геморрагического инсульта и высокая социальная значимость данной патологии подталкивают к необходимости поиска новых методов терапии таких состояний, в том числе с применением возможностей клеточной терапии и регенеративной биомедицины.

Отвечая вызовам и требованиям времени, диссертационная работа Джауари Сталика Станиславовича посвящена изучению нейропротекторных свойств секретома мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) в модели геморрагического инсульта. Множеством исследований было продемонстрировано, что МСК способны стимулировать и координировать процессы обновления и регенерации тканей за счет продукции широкого спектра факторов роста (в том числе, нейротрофических) и цитокинов, что позволяет рассматривать их, как перспективный инструмент для нейропротекции поврежденной ткани мозга. При этом терапевтическое применение совокупности секретируемых факторов (т.н. секретома) обладает рядом преимуществ перед терапевтическим использованием непосредственно МСК: в первую очередь по вопросам хранения и безопасности клеточных

препаратов. Полученные в ходе выполнения диссертационного исследования данные могут способствовать поиску новых терапевтических подходов, направленных на протекцию нервной ткани при внутримозговых кровоизлияниях. В связи с вышесказанным актуальность диссертационной работы С.С. Джауари не вызывает сомнений.

Основные научные результаты, их новизна

При выполнении диссертационного исследования С.С. Джауари было впервые установлено, что секретом МСК способен осуществлять нейропротекцию при геморрагическом инсульте. Кроме того, были проверены основные механизмы, за счет которых реализуется описанный эффект. Предложены подходы к стандартизации секрета МСК для применения в целях нейропротекции, что крайне важно для субстанций, содержащих широкий спектр компонентов. Эксперименты, проведенные Сталиком Станиславовичем, продемонстрировали, что наибольший нейропротекторный эффект в модели интрацеребральной посттравматической гематомы (геморрагический инсульт) оказало введение сконцентрированного в 10 раз секрета МСК при внутривенном введении во временном интервале 1–3 часа после моделирования ГИ.

Таким образом, С.С. Джауари получены новые актуальные данные, которые вносят существенный вклад в понимание патогенетических механизмов геморрагического инсульта и возможности использования бесклеточного препарата секрета МСК для фармакологической коррекции данного состояния.

Научно-практическая значимость работы

Диссертантом получены убедительные данные о нейропротекторной активности секрета МСК на крысиной модели геморрагического инсульта, а также предложены и проверены механизмы, объясняющие данный эффект. Показано влияние секрета МСК на подавление процессов нейровоспаления в очаге повреждения. Проведено исследование нейропротекторных свойств

секретома МСК при различных путях введения. Кроме того, продемонстрирована зависимость нейропротекторной активности от видоспецифичности секретома (секретом МСК человека и секретом МСК крысы).

Полученные в ходе выполнения диссертационного исследования данные могут быть использованы как часть тестов на оценку специфической фармакологической активности оригинального нейропротекторного лекарственного препарата в рамках проведения доклинических испытаний.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации

Данные, представленные в диссертации С.С. Джауари основаны на достаточном объеме экспериментального материала (описано использование 160 особей самцов крыс линии Вистар), получены с использованием адекватной шкалы оценивания тяжести неврологических нарушений, результаты полноценно обработаны статистически. Экспериментальный материал представлен в виде наглядных рисунков и графиков. Заключение и выводы обоснованы и сформулированы убедительно и логично. Материалы, вошедшие в диссертацию, опубликованы в четырех рецензируемых научных журналах и доложены на отечественных и международных научных конференциях, что еще раз подчеркивает актуальность и интерес к представленной работе. Новизна полученных результатов также подтверждается патентом на изобретение РФ.

Структура диссертации

Экспериментальный материал работы представлен подробно и проиллюстрирован 29 рисунками. Во «Введении» описана и обоснована актуальность, научная новизна и практическое значение, общая цель и задачи работы. В «Обзоре литературы» С.С. Джауари освещает современное состояние исследований в области изучения патогенеза геморрагического

инсульта, а также приводит исследования клеточной терапии МСК при геморрагическом инсульте.

В разделе «Материалы и методы» полное и понятное описание методических подходов, используемых в работе со всей необходимой экспериментальной информацией. В разделе «Результаты» последовательно и детально описываются полученные экспериментальные данные. Продемонстрирован выраженный нейропротекторный эффект секрета МСК, проявляющийся в улучшении показателей выживаемости и неврологический статус, а также уменьшении размеров очага повреждения при моделировании геморрагического инсульта у крыс, тогда как препарат сравнения церебролизин уступал секрету МСК по всем изученным показателям. Кроме того, была показана зависимость нейропротекторной активности от видоспецифичности секрета МСК. Были предложены и проверены экспериментально некоторые механизмы, способные опосредовать нейропротекцию в рамках исследуемой модели. А также исследована нейропротекция секрета МСК при различных путях и режимах введения экспериментальным животным. Интересно, что автор исследовал также эффективность воздействия секрета МСК человека при различных вариантах его введения и показал, что наилучший эффект (неврологический дефицит, объем очага) обнаруживается при внутривенном введении, что крайне привлекательно для дальнейшего применения в терапии. Кроме того, автор проанализировал роль BDNF и uPA в составе секрета для его регенеративного эффекта, блокируя их активность антителами, что представлено достаточно убедительно. Очень хотелось бы увидеть и другое исследование: увеличение представленности в секрете BDNF и uPA в различных концентрациях и оценка концентрационной зависимости. «Обсуждение результатов» и «Выводы» работы отражают основные итоги проведенного исследования.

Существенных замечаний по содержанию и оформлению диссертации нет, однако, у оппонента появились в ходе прочтения ряд вопросов и замечаний:

1. Хотелось бы знать, возможен ли различный ответ на воздействие секрета МСК в зависимости от времени сбора, условий содержания клеток, старения клеток, возраста человека или крысы, из клеток которых был взят МСК секретом? В разделе «научная новизна» первая фраза утверждает, что автором в рамках данной работы «Исследован белково-пептидный профиль секрета МСК», хотя исследовано количественное содержание лишь четырех факторов роста (BDNF, VEGF, HGF, uPA). Рекомендуется автору быть более точным в формулировании результатов и выводов исследования.
2. Очень жаль, что в Литературном обзоре, описывая значимые работы ученых в области исследования стволовых клеток, автор не вспомнил Максимова Александра Александровича, который первый ввёл понятие стволовые клетки.
3. В разделе Результаты (4.2) автор описывает группы, которые были сформированы для исследования нейропротекторного эффекта секрета МСК при этом в описании группы нет пояснения на то, используются МСК человека или крысы.
4. Автор использует в работе секретом МСК крысы сконцентрированный в 10 раз, а также секретом человека однократный и сконцентрированный в 10 раз, что удивительно так как исследование проводится на крысах, соответственно, вполне логично было взять однократный и десятикратный секретом МСК именно крысы.
5. Хотелось бы понять, а какие результаты воздействия будут наблюдаться после 14 дней?
6. Чем объясняется снижение неврологических нарушений у животных при введении 10-кратного секрета МСК человека в очаг повреждения при одновременном увеличении объема повреждения.

7. Непонятно, почему автор использовал для оценки эффективности воздействия секрета МСК в зависимости от способа введения секретом МСК человека, а не «родной» для крысы.
8. Судя по рисункам 23 и 24 эффективность секрета МСК10х человека фактически не действует, если его ввести через 6 часов после моделирования инсульта. Как возможно тогда использовать его практически?
9. Чем объясняется ухудшение результатов при использовании МСК50х? У данного препарата есть токсичность? Почему наблюдается потрясающая концентрационная зависимость роста очага в зависимости от кратности секрета МСК человека (чем больше кратность секрета тем больше очаг повреждения)?
10. Вывод 2 слишком обобщенный. Автор не изучал другие секретомы МСК кроме крысы и человека, при этом были взяты две определенные концентрации. Следовало писать вывод по конкретному исследованию.
11. Вывод 3 выглядит, как часть заключения, а не как вывод.
12. Вывод 4. Вероятно не совсем правильно писать, что «одним из механизмов нейропротекторного эффекта секрета МСК...», так как механизмами автор не занимался. Так одно из значений «механизма»- называется совокупность состояний и процессов, из которых складывается какое-либо физическое, химическое, физиологическое, психологическое и т. п. явление. В данном случае автор не изучал это.
13. В выводах было бы желательно опираться на конкретные результаты, указывая чей секретом и в каких концентрациях.
14. На рисунках часто не подписано секретом МСК человека или крысы был использован.

Указанные замечания 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, генной 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 заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.5 – «Физиология человека и животных» и 3.3.6 – «Фармакология, клиническая фармакология».

Дата 24 апреля 2024 года

Павлова Галина Валериевна

доктор биологических наук, профессор РАН, зав. лабораторией нейрогенетики и генетики развития Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
