

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
24.1.204.02 НА БАЗЕ ФГБНУ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ХИРУРГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Б.В. ПЕТРОВСКОГО»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 22 декабря 2022 г. №13
о присуждении Суздальцевой Юлии Геннадиевне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Функциональная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека различного генеза в условиях провоспалительного микроокружения», по специальности 1.5.22. – Клеточная биология принята к защите 15 сентября 2022 года протокол №8 диссертационным советом 24.1.204.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2), сайт организации www.med.ru в соответствии с приказом Минобрнауки России № 833/нк от 12 июля 2022 г.

Соискатель Суздальцева Юлия Геннадиевна, 1966 года рождения. В 1988 году окончила ветеринарно-биологический факультет Московской ветеринарной академии им. К.И. Скрябина, в 1992 году – аспирантуру в Научном центре молекулярной диагностики МЗ СССР. В 1993 году защитила диссертацию на тему: "Влияние искусственно гидрофобизованных антител на репродукцию вируса гриппа в культуре клеток" с присвоением степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – биохимия в диссертационном совете на базе Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения (Москва, Симферопольский бул., д.8). Работает в лаборатории эпигенетики ИОГен РАН в должности ведущего научного сотрудника.

Диссертация выполнена на базе Федерального государственного

бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» Российской академии наук.

Научный консультант: Киселев Сергей Львович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией эпигенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» Российской академии наук.

Официальные оппоненты: 1. Гольдштейн Дмитрий Вадимович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», 2. Глухов Александр Иванович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории прототипирования и испытаний биотехнологических разработок Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», 3. Малашичева Анна Борисовна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией регенеративной биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии» Российской академии наук дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (123007, Москва, Хорошевское шоссе 76 А) дала положительное заключение, подписанное ведущим научным сотрудником лаборатории клеточной физиологии д.б.н. Андреевой Е.Р., в котором говорится, что диссертация Суздальцевой Ю.Г. соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

Соискатель имеет 91 опубликованную научную работу, в том числе 68 – по теме диссертации, из них 20 работ опубликованы в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 44 публикаций – в материалах научных конференций, 1 публикация по теме диссертации написана без соавторов, 67 – в соавторстве, в 28 из них соискатель является первым автором, также автор является обладателем 2 патентов.

Наиболее значимые работы:

1. Suzdaltseva Y, Zhidkih S, Kiselev SL, Stupin V. Locally Delivered Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells Reduce Chronic Inflammation in Long-Term Nonhealing Wounds: A Randomized Study. *Stem Cells Int.* 2020 Feb 14;2020:5308609. doi: 10.1155/2020/5308609. eCollection 2020.
2. Silina E, Stupin V, Koreyba K, Bolevich S, Suzdaltseva Y, Manturova N. Local and Remote Effects of Mesenchymal Stem Cell Administration on Skin Wound Regeneration. *Pathophysiology.* 2021; 28(3):355-373. <https://doi.org/10.3390/pathophysiology28030024>
3. Suzdaltseva YuG, Goryunov KV, Rubtsov YuP. The Role of Intercellular Contacts in Induction of Indolamine-2,3-Dioxygenase Synthesis in MMSC from Adipose Tissue. *Cell and Tissue Biology*, September 2018, Volume 12, Issue 5, pp 391–401. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1990519X18050085>
4. Rubtsov Y, Goryunov K, Romanov A, Suzdaltseva Y, Sharonov G, Tkachuk V. Molecular Mechanisms of Immunomodulation Properties of Mesenchymal Stromal Cells: A New Insight into the Role of ICAM-1. *Stem Cells Int.* 2017;2017:6516854. doi: 10.1155/2017/6516854. Epub 2017 Jun 27.
5. Silina EV, Stupin VA, Suzdaltseva YG, Aliev SR, Abramov IS, Khokhlov NV. Application of Polymer Drugs with Cerium Dioxide Nanomolecules and Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Skin Wounds in Aged Rats. *Polymers (Basel).* 2021 May 1;13(9):1467. doi: 10.3390/polym13091467.

6. Suzdal'tseva YG, Burunova VV, Petrakova NV, Vakhrushev IV, Yarygin KN, Yarygin VN. Comparative analysis of cytophenotypes of cells of mesenchymal lineage isolated from human tissues. Bull Exp Biol Med. 2007 Jan;143(1):147-54. doi: 10.1007/s10517-007-0037-7.

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

На автореферат поступили отзывы от: 1. доктора медицинских наук, член-корр. РАН, профессора, заведующего кафедрой патологической физиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем НТПБ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ Литвицкого Петра Францевича; 2. доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника отдела молекулярных технологий НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» (РНИМУ им. Н.И. Пирогова) Казимирского Александра Николаевича; 3. доктора биологических наук, главного научного сотрудника клеточных основ развития злокачественных заболеваний ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук Рубцова Петра Михайловича; 4. доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической анатомии и клинической патологической анатомии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» (РНИМУ им. Н.И. Пирогова) Мишнева Олего Дмитриевича.

Отзывы положительные, критических замечаний в отзывах по представленной работе нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и их значимости для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, выводы диссертации обоснованы и полностью отражают полученные результаты.

Выбор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук в качестве ведущей организации обоснован тем, что в лаборатории клеточной физиологии в течение многих лет проводятся исследования функциональной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в условиях гипоксии, воспаления, при старении, при взаимодействии с гемопоэтическими клетками, в условиях отсутствия гравитации.

Выбор оппонентов обоснован тем, что: 1. Гольдштейн Дмитрий Вадимович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» занимается изучением экспрессионной и паракринной активности, а также дифференцировочного потенциала мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, а также клеток, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, 2. Глухов Александр Иванович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории прототипирования и испытаний биотехнологических разработок Биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» является автором публикаций, касающихся вопросов изменения экспрессионного профиля, пролиферативного потенциала и злокачественной трансформации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при воздействии гамма-излучения, 3. Малашичева Анна Борисовна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией регенеративной биомедицины ФГБУН «Институт цитологии» РАН является одним из ведущих специалистов в области остеогенной дифференцировки стромальных клеток, полученных из различных тканевых источников взрослого организма, фетусов и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, что отражено в их многочисленных оригинальных публикациях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных автором исследований рецептор-зависимых механизмов индукции функциональной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в условиях провоспалительного микроокружения с участием растворимых факторов и молекул межклеточного взаимодействия, согласованная коммуникация которых необходима для подавления активации и пролиферации иммунных клеток, затухания воспалительной реакции и уменьшения образования рубцовой ткани, разработаны положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, заключающееся в фундаментальном и практическом обосновании возможности использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для коррекции течения хронических воспалительных процессов у пациентов с длительно незаживающими ранами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что научные результаты, свидетельствующие о ранее неизвестной фундаментальной роли ряда белков в индукции функциональной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток по отношению к активированным иммунным клеткам, включая взаимодействие молекул ICAM-1, HLA-DR и CD80/CD86, экспрессирующихся на поверхности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в условиях провоспалительного микроокружения, с их контррецепторами на поверхности CD4⁺ Т-лимфоцитов, могут быть использованы для разработки перспективных подходов к мобилизации эндогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток с применением антагонистов поверхностных молекул (например, антител). Новые данные об участии цитокинов IL-1, IL-6, IFN- γ , G-CSF в эффекте подавления пролиферации активированных иммунных клеток в присутствии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток могут быть использованы для разработки способов прекондиционирования культивируемых мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для усиления

иммуномодуляторных свойств перед трансплантацией. Данные, полученные в этом исследовании, об отсутствии клеточно-опосредованной цитотоксичности при взаимодействии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и иммунокомпетентных клеток от разных доноров являются фундаментальным обоснованием возможности терапевтического использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для аллогенных трансплантаций. В результате проведенного рандомизированного плацебо-контролируемого клинического исследования безопасности и эффективности суспензии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для лечения пациентов с хроническими ранами фундаментально и практически подтверждена гипотеза о том, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки могут регулировать хроническое воспаление в ране, смещая его в сторону заживления. Разработанные в данной работе изогенные клеточные модели примитивной мезодермы и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, полученные в результате последовательной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в мезодермальном направлении, могут быть использованы в качестве перспективных модельных систем *in vitro* для исследования проблем, связанных с возрастным снижением регенеративного потенциала тканей.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследований: культуральных, гистохимических, иммуногистохимических, биохимических, световой микроскопии, проточной цитометрии, иммуноблоттинга, полимеразной цепной реакции, мультиплексного анализа, лазерной доплеровской флоуметрии, а также проведен адекватный анализ, обобщение и статистическая обработка данных.

Изложены доказательства того, что культивируемые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, выделенные из пуповины новорожденного, кожи, костного мозга и жировой ткани взрослого

человека, обладают сходными свойствами по экспрессии поверхностных маркеров CD73, CD90, CD105 и способности дифференцироваться в адипогенном, хондрогенном и остеогенном направлениях. *Культивируемые* мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки исходно обладают провоспалительным фенотипом, конститутивно продуцируя на высоком уровне IL-6, IL-8, MCP-1 и PGE2. Сигналы, поступающие от провоспалительного микроокружения, вызывают в ММСК фенотипические изменения, выражающиеся в индукции синтеза фермента IDO, продукция которого перекрестно регулируется за счет контактного связывания рецепторов HLA-DR и CD80/CD86, а также молекулы адгезии ICAM-1 на поверхности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток с их контррецепторами на Т-лимфоцитах. Контактные коммуникации между мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками и Т-лимфоцитами образуют регуляторную петлю с положительной обратной связью, которая способствует изменению цитокинового микроокружения, подавлению активации и пролиферации иммунных клеток и затуханию воспалительной реакции. При взаимодействии с аллогенными мононуклеарными клетками периферической крови мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки характеризуются саморегулирующейся экспрессией поверхностных молекул главного комплекса гистосовместимости I класса, что определяет возможность их уклонения от атаки клетками иммунной системы реципиента при трансплантации.

Значение полученных соискателем результатов фундаментального исследования для практики подтверждается проведенным рандомизированным плацебо-контролируемым клиническим исследованием безопасности и эффективности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пуповины человека для лечения пациентов с хроническими ранами, одобренным этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Показано, что подкожные инъекции суспензии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток не приводят к появлению

нежелательных реакций местного и системного характера у здоровых добровольцев. Показано, что у пациентов с хроническими ранами локальное введение в область раневого дефекта суспензии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в дополнение к стандартной терапии стимулирует рост грануляционной ткани и улучшает параметры микроциркуляции крови, что приводит к формированию благоприятных условий для естественного заживления или проведения аутодермопластики расщепленным лоскутом. Применение препарата мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в форме суспензии является безопасным и эффективным методом в лечении длительно незаживающих ран. Полученные данные могут стать основой для дальнейших исследований по использованию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток не только в терапии хронических ран, но и других заболеваний, характеризующихся развитием хронического воспаления.

Оценка достоверности результатов работы выявила, что результаты получены на современном сертифицированном оборудовании с использованием обширного комплекса современных методов исследования и статистического анализа, корректных положительных и отрицательных контролей, достаточного количества исследованного материала. Обоснованность научных положений и выводов подтверждена критической оценкой результатов исследования при сравнении с данными современной научной литературы. **Теория** исследования построена на известных данных о роли мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в восстановлении поврежденной ткани, которые благодаря своей способности динамично менять свой экспрессионный и секреторный профиль в зависимости от микроокружения могут выполнять в очаге воспаления регуляторную функцию. **Идея исследования базируется** на комплексном анализе молекулярных механизмов иммуносупрессивной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, с участием растворимых факторов, адгезивных и рецепторных взаимодействий,

обеспечивающих межклеточную коммуникацию, с целью поиска перспективных подходов клеточной и лекарственной терапии при заболеваниях, характеризующихся нарушениями процессов заживления ран. **Использовано сравнение** собственных результатов и данных, полученных другими исследователями, по вопросам регуляторной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в условиях воспаления *in vitro* и *in vivo*. **Установлено совпадение с данными литературы части полученных результатов**, в частности о сходных морфофункциональных характеристиках культивируемых мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, выделенных из различных тканевых источников, по экспрессии поверхностных маркеров CD73, CD90, CD105 и дифференцировочному потенциалу, а также по иммуносупрессивной активности, проявляющейся под действием провоспалительных сигналов и выражающейся в способности подавлять пролиферацию активированных иммунных клеток. **Использованы** репрезентативные группы пациентов и доноров клеток и тканей, современные, адекватные поставленным задачам методы исследования и обработки результатов.

Личное участие автора заключалось в определении задач исследования, планировании, организации и проведении экспериментов, получении и анализе научных данных, их статистической обработке, оформлении результатов в виде публикаций и научных докладов.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Суздальцева Ю.Г. ответила на все задаваемые в ходе заседания вопросы.

На заседании 22 декабря 2022 г. диссертационный совет принял решение за исследования рецептор-зависимых механизмов индукции функциональной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в условиях провоспалительного микроокружения с участием растворимых факторов и молекул межклеточного взаимодействия, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, заключающееся в

фундаментальном и практическом обосновании возможности использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для коррекции течения хронических воспалительных процессов у пациентов с длительно незаживающими ранам присудить Суздальцевой Ю.Г. ученую степень доктора биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за - 17, против - 0, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета 24.1.204.02
член-корр. РАН, профессор, д.м.н.



Л.М. Михалева

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.204.02
д.б.н.

A blue ink signature, likely belonging to A.M. Kosyrev, is written in the space between the text and the name.

А.М. Косырева

«23» декабря 2022 г.