

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Трубицыной И.Е. на диссертационную работу Гониковой Залины Залимгериевны «Исследование регенераторной активности общей РНК клеток костного мозга на экспериментальных моделях печеночной недостаточности», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы, 14.03.03 – патологическая физиология.

Актуальность темы научного исследования

Риск развития опасных для жизни пациента осложнений после введения ему стволовых/прогениторных клеток костного мозга (ККМ) является основным препятствием для внедрения клеточных технологий в широкую практику регенерационной медицины. Именно поэтому уже на протяжении многих лет в клинике проводятся лишь пилотные исследования терапевтических возможностей ККМ на малочисленных группах больных, а метод клеточной терапии не получает всеобщего одобрения. В диссертационной работе З.З. Гониковой предлагается и исследуется новый безопасный технологический способ индукции регенерационных процессов в повреждённых органах (на примере печени) путём использования не ККМ, а биотехнологического клеточного продукта - общей РНК, выделенной из мононуклеарных ККМ. Выше изложенное позволяет признать, что актуальность темы диссертационной работы З.З. Гониковой не вызывает сомнения, т.к. она направлена на совершенствование метода клеточной регенерационной терапии – повышение его эффективности, безопасности, а также технологической и клинической доступности. Однако работа З.З. Гониковой характеризуется не только актуальностью выбранной темы. Её отличает принципиально новое методологическое решение стоящей проблемы: автором предлагается применять не суммарный комплекс различных веществ (или факторов), содержащихся в ККМ, а только общую РНК, выделенную из ККМ, т.к. по современным представлениям именно многочисленные классы молекул РНК (белок – некодирующие и белок - кодирующие РНК) обеспечивают направленную сигнализацию и регуляцию процессов жизнедеятельности клеток в организме, процессов адаптации и регенерации. Новый методологический подход к решению проблемы создания безопасного метода регенерационной терапии, основанного на применении не ККМ, а биотехнологического моно-продукта – общей РНК (oРНК), выделенной из ККМ, - предопределил научную новизну и практическую значимость работы.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационной работы З.З. Гониковой состоит в том, что автор используя модель адаптивного переноса доказала, что общая РНК (оРНК), выделенная из моонуклеарных ККМ, способна осуществить адресный перенос регенерационных сигналов. Установленный ею факт позволяет связать общепризнанную способность ККМ индуцировать регенерационные процессы в поврежденных органах с переносом этими клетками активированных сигнальных молекул РНК. Модель адаптивного переноса была удачно использована также для выбора биологически активной дозы оРНК. На модели обширной резекции печени при сравнительном исследовании выраженности регенераторного воздействия однократного применения ККМ и оРНК из ККМ (в биологически активных дозах) было показано, что и ККМ и оРНК оказывают стимулирующие воздействия на восстановительные процессы в печени. Однако оРНК в отличие от ККМ способствует более раннему и более выраженному усилению митотической активности гепатоцитов, а также более раннему, т.е. ускоренному восстановлению исходной массы печени после резекции. Автором предложена новая модель хронического фиброзирующего повреждения печени и на этой модели также было показано, что по сравнению с ККМ оРНК способствует не только ускоренному восстановлению показателей функции печени, но и ускоряет восстановление морфологического состояния печени за счет индукции в ней дефиброзирующих процессов. Новизна полученных результатов подтверждена выдачей автору 3 свидетельств об изобретениях.

Практическая значимость работы

Автором идентифицирован новый безопасный и эффективный биотехнологический продукт – оРНК из моонуклеарных ККМ, который предназначен заменить ККМ при индукции и регуляции восстановительных процессов в поврежденных органах (печени). Автором предложена новая модель хронического токсического (фиброзирующего) повреждения печени, которая может быть использована для скрининга новых лекарственных препаратов на этапе их доклинического исследования. Модель адаптивного переноса может быть использована также для определения биологически активной дозы препаратов, активирующих регенерационный процесс в поврежденном органе (печени). Результаты исследования, проведенного З.З. Гониковой, используются в работе отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ

трансплантологии искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России и на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета «Первого Московского Государственного Медицинского Университета им. И.М Сеченова» МЗ РФ.

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

Достоверность положений выводов и практических рекомендаций работы обусловлена четким соответствием выполненных серий и групп экспериментов, с использованием в них достаточного количества животных, а также применением адекватных современных методов исследования. Грамотное выполнение статистической обработки полученных результатов позволило провести их объективный анализ, обоснованно сформулировать выводы и основные положения, вынесенные на защиту, а также практические рекомендации, вытекающие из результатов проведенной работы.

Оценка содержания и завершенности диссертации

Диссертация написана по традиционному плану на 118 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц 16 рисунков и состоит из введения, 4-х глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список цитированной литературы включает 185 источников, из которых 25 отечественных и 160 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность темы диссертационной работы, ставит цель и формулирует задачи исследования, указывает научную новизну и практическую значимость, и дает общую характеристику проведенной работы.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, который обобщает современные представления о патогенезе печеночной недостаточности и развитии фиброза печени, а также приводит сведения об эффективности различных методов терапии острой и хронической печеночной недостаточности. Особенно подробно автор анализирует возможности клеточной терапии, включая терапевтические возможности применения клеток костного мозга, генной терапии и отдельных белок – некордирующих РНК, и прежде всего микро-РНК, выделенных из ККМ. Указывая на ограниченные возможности получения и применения микро-РНК, а также учитывая высокую значимость отдельных классов молекул РНК в регенерационных процессах автор в конце обзора выдвигает концепцию о целесообразности применения оРНК из ККМ вместо ККМ для повышения эффективности и безопасности проведения регенерационной терапии в клинике с

помощью этого биотехнологического продукта, выделенного из ККМ. Отсутствие в литературе сведений о целесообразности и эффективного применения оРНК для репаративной регенерации печени позволило автору обоснованно сформулировать цель и задачи исследования.

Глава 2 посвящена характеристике материалов выполненной работы и использованных методов исследования. На достаточно большом общем количестве животных (крысы - самцы породы Вистар, $n=453$), автор провела не только большую подготовительную работу по отработке методов моделирования острой и хронической печеночной недостаточности, по отработке технологии выделения мононуклеарной фракции ККМ и оРНК из ККМ ($n=101$), но также выполнила 3 серии опытов ($n=352$), в которых была изучена способность оРНК служить переносчиком регенерационных сигналов и индуцировать восстановительные процессы в поврежденной печени. В этой главе дано описание техники выделения мононуклеарных ККМ, подробное описание технологии выделения оРНК из ККМ; изложены методики моделирования адоптивного переноса, острой печеночной недостаточности путем обширной резекции печени и новой методики моделирования хронического и токсического повреждения печени, которая была предложена автором. Для оценки результатов, в том числе терапевтического применения ККМ и оРНК, автором были использованы современные адекватные биохимические и морфологические (гистологические и гистохимические) методы исследования. В этой главе указаны также использованные автором методы статистической обработки материала, позволяющие оценить достоверность полученных результатов.

Глава 3 целиком отражает результаты проведенной работы. Эта глава состоит из трех частей. В первой части автор приводит убедительные доказательства способности оРНК к адресному переносу регенерационных сигналов. Для этого была использована модель адоптивного переноса, причем о переносе регенерационных сигналов автор судила по усилению митотической активности гепатоцитов в печени интактных крыс-реципиентов после введения им оРНК из активированных ККМ донора, полученных через 12 часов после выполнения у этого донора субтотальной резекции печени. Во второй части автор приводит данные о результатах коррекции острой печеночной недостаточности (после обширной резекции печени) с помощью ККМ и оРНК из ККМ, использованных однократно в эквивалентных дозах. В третьей части автор приводит данные о результатах сравнительного исследования состояния восстановительных процессов в печени после моделирования хронического токсического (фиброзирующего) повреждения печени при использовании ККМ и оРНК в эквивалентных дозах.

Результаты этих исследований составили научную новизну и практическую значимость работы, сущность которых отражена в соответствующих разделах отзыва.

Глава 4 представляет собой развернутое обсуждение результатов проведения работы, которые убеждают в целесообразности, эффективности и безопасности применения оРНК из ККМ для обеспечения надежной интенсификации восстановительных процессов в поврежденной печени. Это глава убеждает в том, что будущее регенерационной клеточной терапии будет принадлежать не стволовым/прогениторным ККМ, а биотехнологическим продуктам из ККМ, в частности оРНК.

Работу завершает заключение и 5 выводов, которые соответствуют поставленным задачам; они логично вытекают из результатов проведенной работы и не вызывают сомнения, т.к. обосновываются конкретными результатами выполненных исследований. Практические рекомендации не вызывают возражений.

В целом диссертация З.З. Гониковой имеет четкую структуру, основные результаты которой наглядно представлены таблицами и рисунками; замечаний по изложению и оформлению работы - нет. По материалам диссертации опубликовано 6 работ, из которых 2 статьи, напечатанные в журналах, рекомендованных ВАК РФ и 4 тезисы докладов, доложенных на тематических конференциях; по материалам проведенной работы получено 3 авторских свидетельства об изобретениях. Публикации и автореферат полностью отражают основное содержание работы З.З. Гониковой.

В процессе изучения диссертационной работы возникло несколько вопросов, которые не влияют на общую положительную оценку работы:

1. Имеются некоторые стилистические ошибки, которые не влияют на качество выполненной работы и не портят общего представления о диссертационной работе З.З. Гониковой.
2. В процессе ознакомления с диссертационной работой у меня возник вопрос, в чем особенность термина «адоптивный».

Заключение

Диссертация З.З. Гониковой на тему «Исследование регенераторной активности общей РНК клеток костного мозга на экспериментальных моделях печеночной недостаточности»

представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой решена важная научно - практическая задача – выделен из клеток костного мозга новый безопасный биотехнологический продукт, пригодный для осуществления эффективной и ускоренной регуляции восстановительных процессов в поврежденных органах (в данном случае печени).

По актуальности, новизне и научно-практической значимости результатов проведенного исследования - диссертационная работа З.З. Гониковой на тему «Исследование регенераторной активности общей РНК клеток костного мозга на экспериментальных моделях печеночной недостаточности» соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сама автор - З.З. Гоникова достойна присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.01.24- трансплантология и искусственные органы, и 14.03.03 - патологическая физиология.

Официальный оппонент

Заведующая лабораторией доклинических исследований Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Московский Клинический Научный центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения города Москвы (ГБУЗ «МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ»)

Трубицына Ирина Евгеньевна

доктор медицинских наук

19.08.2019 г.

Почтовый адрес: 111123 г. Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86

Телефон: 8 (495) 305-09-79

E-mail: ie.tmbitsyna@gmail.com

Подпись официального оппонента, д.м.н. И.Е. Трубицыной заверяю

Ученый секретарь ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова ДЗМ»

к.м.н. Т.А. Косачева

