

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

**диссертационного исследования Мироновой Екатерины Сергеевны на тему:
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям:
14.01.30 – геронтология и гериатрия;
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология**

Как известно, дифференцированные нейроны обладают ограниченным репаративным потенциалом. В настоящее время для трансплантации стволовых клеток при нейродегенеративных патологиях изучаются возможности применения эмбриональных стволовых клеток, стволовых клеток пуповинной крови, а также мезенхимальных стволовых клеток, предифференцированных в нейральном направлении. Характеристиками стволовых клеток, необходимых для нейротрансплантации, являются высокая жизнеспособность, пролиферативный потенциал, накопление достаточного количества клеток, которое необходимо для восстановления замещаемой нервной ткани, способности к интеграции с тканью реципиента. Дентальные стволовые клетки, привлекают повышенное внимание для клеточной терапии из-за их легкого неинвазивного получения. Данные типы клеток обладают высокой пролиферативной способностью, гомогенностью и стабильным фенотипом. В связи с этим целью исследования явилось изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении.

Для оценки свойств мезенхимальных стволовых клеток автором было выполнено цитофлуориметрическое детектирование поверхностных мезенхимальных и гемопоэтических маркеров, а также индукция мезенгенной дифференцировки клеток в адипогенном и остеогенном направлениях. В исследовании Мироновой Е.С. методами иммунофлуоресцентного анализа с использованием лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, а также полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с реакцией обратной транскрипции были изучены сигнальные молекулы p16 и p21, так как экспрессия этих генов и синтез белков играет ключевую роль в процессах клеточного цикла и старения клеток. В качестве маркеров нейрогенной дифференцировки были выбраны сигнальные молекулы нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин. Автором установлено, что пептиды AEDG и KED в концентрации 10 нг/мл снижают экспрессию генов и синтез белков p16 и p21 в дентальных стволовых клетках в 1,56 – 3,23 раза по сравнению с контролем. Кроме того, пептиды AEDG и KED в концентрации 10 нг/мл повышают экспрессию генов и синтез белков нестина, β -тубулина III, GAP43, даблкортина в дентальных стволовых клетках в 1,58 – 1,90 раза по сравнению с контролем.

Диссертационное исследование Мироновой Е.С. выполнено и оформлено на высоком методическом уровне. Текст проиллюстрирован большим количеством

репрезентативных микрофотографий и графиков, облегчающих представление численных данных. Работа продумана, логично выстроена, цель достигнута, задачи решены, получены важные приоритетные научно-практические результаты в области клеточной биологии старения и молекулярной геронтологии. По материалам диссертации опубликовано 32 научные работы, из которых 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объёму исследований, глубине анализа и обобщения материала настоящая диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Миронова Екатерина Сергеевна, несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Директор Института экспериментальной медицины
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава РФ
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук
(14.00.16 – патологическая физиология)
профессор

Галагудза Михаил Михайлович

«5» октября 2020 г.

Подпись чл.-корр. РАН, д.м.н. М.М. Галагудзы заверяю

Смирнин И.И.



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

(ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России)

Почтовый адрес организации: 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул.

Аккуратова, д. 2.

Телефон/факс: +7 (812) 702-51-91

e-mail: galagudza@almazovcentre.ru

web сайт: <http://www.almazovcentre.ru/>

ОТЗЫВ

доктора медицинских наук, профессора, профессора РАН, члена-корреспондента РАН Сычева Дмитрия Алексеевича, заведующего кафедрой клинической фармакологии и терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации на автореферат диссертации Мироновой Екатерины Сергеевны на тему: «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Гибель нейронов при нейродегенеративных заболеваниях наблюдается под действием разнообразных патогенетических факторов, таких как накопление токсических белковых агрегатов, митохондриальная дисфункция, внутриклеточный кальциевый дисбаланс, окислительный стресс, что приводит к множественным нарушениям сигнальных путей головного мозга. С возрастом экспрессия сигнальных молекул в нейронах головного мозга, как и в клетках других органов, претерпевает негативные изменения. Инволютивные процессы, связанные со старением организма, обнаруживаются и на клеточном уровне: нарушается укладка белковых цепей и их катаболизм, что впоследствии приводит к снижению чувствительности гипоталамуса к регуляторным сигналам, снижению синтеза гормонов и нейромедиаторов. В настоящее время не существует достаточно эффективных и безопасных средств лечения нейродегенеративных заболеваний, которые чаще всего диагностируются на этапе декомпенсации, когда терапия является мало действующей и не приносит положительных исходов. Перспективными нейропротекторами являются пептидные биорегуляторы, обладающие высокой физиологической активностью, низкой иммуногенностью и способностью к регуляции экспрессии различных сигнальных молекул. В связи с этим, целью диссертационной работы Мироновой Е.С. явилось изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку денальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении.

Личный вклад автора в диссертационную работу состоял в разработке плана исследования, проведении опытов, статистической обработке и анализе полученных данных. В задачи исследования входило изучение влияния пептидов AEDG и KED на экспрессию генов и синтез белков репликативного старения (p16, p21) и нейрогенной дифференцировки (нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин) в стволовых клетках периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клетках десны человека. Миронова Е.С. принимала участие во всех экспериментах, включавших в себя изолирование и культивирование стволовых клеток, проточный цитофлуориметрический анализ, индукцию мезенхимной дифференцировки стволовых клеток, гистологическое и иммунофлуоресцентное окрашивание, световую и лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, морфометрию, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени с обратной транскрипцией. Автор также принимала непосредственное участие в анализе данных, статистической обработке полученных результатов исследования, написании статей, главы в монографии, тезисов, выступлениях с докладами на международных и отечественных конференциях.

Исследование Мироновой Е.С. позволило установить, что пептиды AEDG и KED могут быть использованы в качестве дополнительных веществ в культуральных средах с целью снижения экспрессии маркеров репликативного старения p16, p21 и стимулирования

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационного исследования Мироновой Екатерины Сергеевны на тему:
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека»,
на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальностям: 14.01.30 – Геронтология и гериатрия;
03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Количество эндогенных стволовых клеток снижается с возрастом. Также при старении наблюдается снижение способности стволовых клеток к пролиферации и дифференцировке. Пониженная регенеративная способность эндогенных стволовых клеток связана с замедлением интенсивности энергообмена, нарушением синтеза РНК и белков, снижением эффективности репарации ДНК и активацией генов-супрессоров опухолевого роста. Таким образом, поиск веществ, которые могут быть использованы для поддержания морфологии и функций стволовых клеток, а также снижения экспрессии маркеров старения и апоптоза при их длительном культивировании, является актуальной задачей молекулярной геронтологии. В связи с этим, целью работы Мироновой Е.С. явилось изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении.

В диссертационной работе Мироновой Е.С. впервые изучена способность пептидов AEDG и KED влиять на процесс репликативного старения дентальных стволовых клеток. Установлено, что пептиды AEDG и KED замедляют репликативное старение клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека в условиях *invitro*, снижая экспрессию генов и синтез белков p16 и p21 в исследованных культурах.

Автором также впервые изучена способность пептидов AEDG и KED влиять на нейрогенез дентальных стволовых клеток. Установлено, что пептиды AEDG и KED индуцируют дифференцировку клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека в нейрогенном направлении *invitro*, повышая экспрессию генов и синтез белков нестина, β -тубулина III, GAP43, даблкортина в исследованных культурах.

Основные положения, выдвигаемые соискателем на защиту, выводы и рекомендации, сформулированные Мироновой Е.С. по результатам диссертации, достаточно обоснованы данными собственных, тщательно спланированных и

корректно проведенных исследований с применением современных методов молекулярной биологии. Материалы диссертации Мироновой Е.С. доложены на ведущих отечественных и международных научно-практических конференциях в области геронтологии, клеточной биологии и широко известны специалистам в данных областях. Автором опубликовано 69 научных работ, из них 32 – по материалам диссертационного исследования.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор, Миронова Е.С., заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – Геронтология и гериатрия; 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующий кафедрой терапии, гериатрии и антивозрастной медицины
Академии постдипломного образования Федерального государственного
бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр
специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства»
доктор медицинских наук, профессор
14.01.30 – Геронтология и гериатрия

Ильницкий Андрей Николаевич

«2» 11 2020 г.

Подпись д.м.н., проф. А.Н. Ильницкого заверяю:
Ученый секретарь Академии постдипломного образования
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России
кандидат медицинских наук, доцент



Курзанцева Ольга Олеговна

Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России)
Почтовый адрес организации: 125371, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, д. 91.
Телефон/факс: +7 (495) 601-91-79 / +7 (495) 491-35-27; e-mail: a-ilnitski@yandex.ru; web сайт: <http://www.medprofedu.ru/>

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», выполненной Мироновой Екатериной Сергеевной для представления к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям:

14.01.30 – геронтология и гериатрия;

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Мезенхимальные стволовые клетки широко используются в тканевой инженерии и регенеративной медицине. Первыми мезенхимальными стволовыми клетками, культивируемыми *in vitro*, были стволовые клетки, выделенные из костного мозга, однако их получение возможно только с применением инвазивной методики. Ткань десны, как новый источник постнатальных стволовых клеток, привлекает внимание исследователей из-за не инвазивного доступа. В частности, стволовые клетки периодонтальной связки и мезенхимальные стволовые клетки десны показали те же функциональные и морфологические особенности, что и клетки, полученные из костного мозга и впоследствии были определены как мезенхимальные стволовые клетки в соответствии с критериями международного общества клеточной терапии. Цель исследования – изучить влияние пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении.

Е.С. Мироновой было проведено иммунофлуоресцентное исследование для верификации маркеров репликативного старения и нейрогенеза, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени мРНК транскриптов исследуемых генов и статистическая обработка полученных результатов. Такая методология исследования является современной и позволяет считать достоверными полученные автором результаты.

В диссертационной работе Е.С. Мироновой получены важные приоритетные данные. Пептиды AEDG и KED могут быть использованы в качестве дополнительных веществ в культуральных средах для снижения репликативного старения дентальных стволовых клеток, так как установлена их способность снижать экспрессию генов и синтез белков p16, p21, ответственных за клеточный цикл. Длительное культивирование стволовых клеток необходимо для их клинического применения с целью регенерации тканей и органов.

Кроме того, пептиды AEDG и KED могут быть рекомендованы для дальнейшего экспериментального изучения с целью создания средств, стимулирующих дифференцировку стволовых клеток в нейрогенном направлении, так как установлена их способность увеличивать экспрессию генов и синтез белков нейрогенеза (нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин) в дентальных стволовых клетках. Индуцированные мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки могут быть использованы в клинике для трансплантации в поврежденную область нервной системы с целью профилактики и лечения нейродегенеративных

заболеваний, ассоциированных с возрастом.

В диссертации Е.С. Мироновой на основании самостоятельно выполненных исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать, как новое решение актуальной научной проблемы в области молекулярной геронтологии и клеточной биологии. Работа открывает новые перспективы для применения пептидов в качестве средств профилактики нейродегенеративной патологии. По теме диссертации опубликовано 32 научные работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор – Е.С. Миронова – несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующий лабораторией
физиологии возбудимых мембран
ФГБУН «Институт физиологии
им. И.П. Павлова» РАН,
доктор биологических наук, профессор
по специальности 03.03.01 – физиология


Крылов Борис Владимирович

« 8 » ОКТ. 2020 г.

Подпись д.б.н., проф. Б.В. Крылова заверяю.



Подпись: Крылова Б.В.
Олея С.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук (ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН)

Почтовый адрес организации: 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

Телефон/факс: +7(812) 328-07-01 / +7(812) 328-05-01

e-mail: krylov@infran.ru

web сайт: <https://www.infran.ru/>

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационного исследования Мироновой Екатерины Сергеевны на тему:
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям:
14.01.30 – геронтология и гериатрия;
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

При старении организма пул постнатальных стволовых клеток уменьшается, что приводит к снижению восстановительных возможностей и нарушению функций организма. Мезенхимальные стволовые клетки широко используются в тканевой инженерии и регенеративной медицине. Тем не менее длительное культивирование стволовых клеток в условиях *in vitro* представляет собой механизм, который постепенно вызывает потерю клеточных функций и клетки становятся непригодными для клинического применения, которое требует большого их числа. Поэтому поиск веществ, способных стимулировать функциональную активность стволовых клеток и их пролиферативный потенциал при длительном пассировании является особенно актуальным.

Цель работы – изучить влияние пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении.

Личный вклад автора в диссертационное исследование состоял в разработке плана исследования, проведении опытов, статистической обработке и анализе полученных данных. Для достижения цели Е.С. Мироновой были поставлены и последовательно решены следующие задачи. В них входило изучение влияния пептидов AEDG и KED на экспрессию генов и синтез белков репликативного старения (p16, p21) и нейрогенной дифференцировки (нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин) в стволовых клетках периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клетках десны человека. В работе впервые изучена способность пептидов AEDG и KED влиять на процесс репликативного старения дентальных стволовых клеток. Установлено, что пептиды AEDG и KED замедляют репликативное старение клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека в условиях *in vitro*, снижая экспрессию генов и синтез белков p16 и p21 в исследованных культурах. Кроме того, в работе изучена способность пептидов AEDG и KED влиять на нейрогенез дентальных стволовых клеток. Установлено, что пептиды AEDG и KED индуцируют дифференцировку клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека в нейрогенном направлении *in vitro*, повышая экспрессию генов и синтез белков нестина, β -тубулина III, GAP43, даблкортина в исследованных культурах.

Исследование вносит значимый вклад в изучение пептидной регуляции клеточного старения *in vitro* и открывает новые перспективы для применения коротких пептидов в качестве геропротекторных средств. Общее количество

научных трудов, опубликованных соискателем – 69. По материалам диссертации опубликовано 32 научные работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор – Е.С. Миронова – несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующая кафедрой патологии
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»
доктор медицинских наук, профессор
(14.03.02 – патологическая анатомия)

Павлова Татьяна Васильевна

«15» октября 2020 г.

Личную подпись
удостоверяю
Документовед
управления
по развитию
персонала и
кадровой работе

Павловой Т.В.

Павл. Захаркин П.А.

«15» 10 2020



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

(ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ»)

Почтовый адрес организации: 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85.

Телефон/факс: +7(4722) 30-12-11 / +7(4722) 30-10-12, (4722) 30-12-13

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

web сайт: <https://www.bsu.edu.ru/bsu/>

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационной работы Мироновой Екатерины Сергеевны на тему:
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия;
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Способность стволовых клеток давать начало всем клеткам организма делает их дисфункцию особенно важной для понимания процесса старения на уровне тканей, органов и организма в целом. Стареющие клетки могут оказывать влияние как на соседние клетки, так и на весь организм, синтезируя определённые сигнальные молекулы, участвующие в различных каскадных реакциях. Считается, что клеточное старение является одним из механизмов старения организма. Пептидные биорегуляторы участвуют в поддержании функционального гомеостаза клеточных популяций, контролируют экспрессию генов и синтез белков. Поэтому исследование молекулярных механизмов пептидной регуляции репликативного старения и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении является актуальным направлением для современной молекулярной геронтологии и клеточной биологии и имеет важное прикладное значение.

В работе проведена оценка геропротекторных эффектов пептидов AEDG и KED в условиях длительного культивирования *in vitro* (модель репликативного старения). Для достижения поставленной цели использовались культуры дентальных стволовых клеток 25 пассажа. Иммунофлуоресцентный метод исследования с применением лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и ПЦР в реальном времени показали снижение экспрессии генов и синтеза белков p16 и p21 под действием пептидов по сравнению с клетками контрольной группы. Таким образом, пептиды AEDG и KED способны стимулировать деление мезенхимальных стволовых клеток, снижая их репликативное старение при длительном культивировании.

В исследовании способности пептидов AEDG и KED стимулировать дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в нейрогенном направлении автором использовались культуры дентальных стволовых клеток 3 пассажа. Пептиды повышали экспрессию генов и синтез белков нестина, β -тубулина III, GAP43, даблкортина по сравнению с клетками контрольной группы. Таким образом, стимуляция короткими пептидами дифференцировки стволовых клеток в нейрогенном направлении может быть использована в регенеративной медицине с целью профилактики заболеваний, ассоциированных с возрастом.

Диссертационная работа Е.С. Мироновой «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», представленная на соискание ученой степени

кандидата биологических наук, является самостоятельно выполненным завершённым научным квалификационным исследованием. Высокий уровень диссертации подтверждается наличием 32 научных работ по теме диссертации, из которых 7 отечественных и зарубежных статей опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

По актуальности, объёму выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор – Е.С. Миронова – несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующая кафедрой гериатрии
и возрастной эндокринологии
ФГБОУ ВО «Самарский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ
доктор медицинских наук, доцент
(14.01.30 – геронтология и гериатрия;
14.01.15 – травматология и ортопедия)

Булгакова Светлана Викторовна

«20» октября 2020 г.

Подпись д.м.н. доц. Е.С. Булгаковой заверяю



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Самарский государственный медицинский
университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России)
ВЕРНО:
Подлинник документа находится
в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России
Начальник управления кадров

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования "Самарский государственный медицинский университет"

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России)

Почтовый адрес организации: 443099, Россия, Самара, ул. Чапаевская, д. 89.

Телефон/факс: +7 (846) 951-76-45

e-mail: osteoporosis63@gmail.com

web сайт: <http://www.samsmu.ru/>

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

**диссертационной работы Мироновой Екатерины Сергеевны на тему:
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия;
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология**

Поиск способов протекции нервных клеток при старении, а также возможность восстановления функций нейронов и утраченных нервных синапсов существенно повысят качество и длительность жизни пожилых пациентов с нейродегенеративными расстройствами. Перспективным направлением для лечения таких пациентов на данный момент является поиск методов, обеспечивающих нейротрансплантацию стволовых клеток в поврежденную область головного мозга.

Целью работы Е.С. Мироновой явилось изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении. Автором проведено фенотипирование исследуемых дентальных стволовых клеток, изучено влияние пептидов AEDG и KED на экспрессию генов, синтез белков репликативного старения (p16, p21) и нейрогенеза (нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин) в стволовых клетках. Автор принимала участие во всех экспериментах, включавших в себя изолирование и культивирование клеток, проточный цитофлуориметрический анализ, индукцию мезенхимной дифференцировки, гистологическое и иммунофлуоресцентное окрашивание, световую и лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, морфометрию, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени с реакцией обратной транскрипции, статистической обработке полученных результатов исследования.

Е.С. Миронова установила, что пептиды AEDG и KED стимулируют экспансию мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* и замедляют их репликативное старение посредством снижения экспрессии генов и синтеза белков p16 и p21. Кроме того, пептиды AEDG и KED способны индуцировать дифференцировку дентальных стволовых клеток в нейрогенном направлении посредством повышения экспрессии генов и синтеза белков, ответственных за нейрогенез.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне и оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к научному изданию. Полученные данные представляют собой серьезный вклад в решение задач, имеющих важное научно-практическое значение в области молекулярной геронтологии и клеточной биологии. Высокий уровень работы подтверждается наличием 32 научных работ, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для

опубликования материалов диссертационных исследований. 4 из 7 представленных статей индексируются в международных базах данных Scopus и Web of Science.

По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор – Е.С. Миронова – несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Воробьев Константин Владимирович

«1» октября 2020 г.

Подпись д.б.н. К.В. Воробьева заверяю

Профессор высшей школы
биомедицинских систем и технологий
Института биомедицинских систем и технологий
ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский
политехнический университет Петра Великого»,
Доктор биологических наук
(14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика)

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого" (ФГАОУ ВО "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого")
Почтовый адрес организации: 195251, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29.

Телефон/факс: +7 (812) 775-05-30

e-mail: vorobiev_kv@spbstu.ru

web сайт: <https://www.spbstu.ru/>



ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационной работы Мироновой Екатерины Сергеевны
«Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной
дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия;
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Мезенхимальные стволовые клетки подвержены так называемой сенесценции (репликативному старению). Клеточное репликативное старение сопровождается необратимой остановкой клеточного цикла, изменением морфологии клеток (преобладание уплощенных клеток увеличенного размера) и усилением экспрессии маркеров старения. Считается, что клеточное старение является одним из механизмов старения организма. Способность стволовых клеток давать начало всем клеткам организма делает их дисфункцию особенно важной для понимания процесса старения на уровне органов и организма в целом.

Целью работы Мироновой Е.С. явилось изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении. Для достижения поставленной цели автором был применен иммунофлуоресцентный метод исследования сигнальных молекул и ПЦР в режиме реального времени. Указанные методы являются современными и активно используются в научных исследованиях в России и за рубежом.

Автором установлено, что используемые в исследовании культуры стволовых клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека обладают иммунофенотипом мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток (позитивны в отношении молекул CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 и негативны в отношении гемопоэтических поверхностных молекул CD14, CD34 и CD45), а также способностью к мезенхимной дифференцировке, что соответствует минимальным необходимым и достаточным критериям, принятым международным сообществом по клеточной терапии.

Миронова Е.С. установила, что пептиды AEDG и KED статистически значимо снижают экспрессию генов и синтез белков репликативного старения p16 и p21 в стволовых клетках периодонтальной связки и в мезенхимальных стволовых клетках десны человека.

Кроме того, пептиды AEDG и KED статистически значимо повышают экспрессию генов и синтез белков нейрогенеза: нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин в стволовых клетках периодонтальной связки и в мезенхимальных стволовых клетках десны человека.

Диссертационное исследование Мироновой Е.С. является научной квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать, как новое решение научной

проблемы в области молекулярной геронтологии и клеточной биологии. Автором опубликовано 32 научные работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для опубликования материалов диссертационных исследований (из них 4 статьи, индексируемые в Scopus и Web of Science), 1 глава в коллективной монографии, 1 статья в другом журнале и 23 тезиса докладов. Миронова Е.С. также принимала участие в выступлении с докладами на ведущих международных и отечественных конференциях.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а ее автор, Миронова Екатерина Сергеевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Профессор кафедры факультетской терапии
им. профессора В.А. Вальдмана
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический
медицинский университет» МЗ РФ
доктор медицинских наук
(специальность 14.01.30 – геронтология и гериатрия),
доцент (специальность 14.01.04 – внутренние болезни)

«09» 10 2020 г.

В. Федор

Федорцов Виктор Николаевич

Подпись В.Н. Федорца заверяю

специалист

Тамара



кадров

к.ю.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ)

Адрес: 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2

Телефон: +7 (812) 295-06-46

Мейл: viktor.fedorec@rambler.ru

Сайт: <https://gpmu.org/>