

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»



С.В. Микушев

2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

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

Актуальность темы выполненной работы и её связь с соответствующими отраслями науки и практической деятельности

С возрастом снижается количество постнатальных стволовых клеток, регулирующих физиологическое обновление тканей и поддержание гомеостаза в организме человека. Истощение запаса постнатальных стволовых клеток при старении, соматической патологии или воздействии вредных факторов внешней среды снижает способность организма к восстановлению. Благодаря способности мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток дифференцироваться в клетки скелетных и хондрогенных тканей, а также в нейроны и глиальные клетки, они широко используются в регенеративной медицине, в частности, при возраст-ассоциированных нейродегенеративных заболеваниях.

Эксперименты, проведенные в условиях *in vitro*, продемонстрировали способность некоторых коротких пептидов влиять на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, что выражается в регуляции синтеза различных сигнальных молекул. Однако, несмотря на большое количество исследований в данной научной области, тончайшие механизмы пептидной регуляции процессов репликативного старения и нейрогенной дифференцировки постнатальных стволовых клеток остаются малоизученными. В связи с этим, диссертационное исследование Мироновой Екатерины Сергеевны, целью которого явилось изучение влияния

пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку дентальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении, несомненно актуально и своевременно.

Диссертационная работа является научной темой, выполняемой по основному плану научно-исследовательских работ АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Мироновой Екатерины Сергеевны 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.

Автором 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 *in vitro*, повышая экспрессию генов и синтез белков нестина, β -тубулина III, GAP43, даблкортина в исследованных культурах.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов

Диссертационная работа Мироновой Екатерины Сергеевны имеет большое научно-практическое значение. Исследование влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение дентальных стволовых клеток в условиях *in vitro* позволило установить, что изученные пептиды могут быть использованы в качестве дополнительных веществ в культуральных средах с целью снижения экспрессии маркеров репликативного старения p16, p21 и стимулирования широкомасштабной экспансии мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток *in vitro*. Практическая значимость работы состоит в том, что пептиды могут обеспечить необходимую для клинического применения низкую степень старения клеток при их длительном культивировании.

Кроме того, автором установлена способность пептидов AEDG и KED увеличивать экспрессию генов и синтез белков нейрогенеза (нестин, β -тубулин III, GAP43, даблкортин) в культурах дентальных стволовых клетках. Таким образом изученные пептиды могут быть рекомендованы в качестве средств, стимулирующих дифференцировку стволовых клеток в нейрогенном направлении. Практическая значимость работы состоит в том, что индуцированные мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки могут быть использованы в регенеративной медицине для нейротрансплантации в поврежденную область нервной системы с

целью профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с возрастом.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Мироновой Екатерины Сергеевны включает: введение, содержащее актуальность проведенной работы; главы, посвященные обзору литературы, материалам и методам исследования, описанию результатов собственных исследований и их обсуждению; заключение; выводы; практические рекомендации; список литературы. Текст диссертации изложен на 112 страницах, содержит 6 таблиц, иллюстрирован 23 рисунками. Список литературы содержит 173 источников, из них на русском языке – 36, на английском – 137.

Во введении диссертации дано обоснование актуальности проведенного исследования. Определены цель и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту, а также обоснована практическая значимость полученных результатов.

Объектом для исследования были выбраны культуры стволовых клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека. Для оценки свойств клеток было выполнено флуоресцентное цитофлуориметрическое детектирование поверхностных мезенхимальных и гемопоэтических маркеров, а также индукция мезенхимной дифференцировки клеток в адипогенном и остеогенном направлениях и её идентификация с использованием метода световой микроскопии.

Изучение влияния пептидов AEDG и KED на репликативное старение и нейрогенную дифференцировку культур дентальных стволовых клеток проводилось при помощи современных методов клеточной и молекулярной биологии, что позволило автору получить репрезентативные результаты, демонстрирующие высокий научно-методический уровень работы. Для достижения цели и решения поставленных задач Миронова Екатерина Сергеевна применяла метод иммунофлуоресцентного анализа с использованием лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, а также метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с реакцией обратной транскрипции. Эти современные методы широко используются отечественными и зарубежными исследователями. Результаты исследований анализировали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 6.0 (GraphPad Software, США) по показателю экспрессии мРНК. Методы описательной статистики включали в себя оценку среднего арифметического значения и стандартного отклонения от среднего значения. Различия между уровнями исследуемого фактора оценивались с помощью двустороннего дисперсионного теста. Для выполнения большого числа попарных сравнений групповых средних без потери статистической мощности был применен критерий Тьюки. Значение $p < 0,01$ считалось статистически значимым во всех тестах.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из полученных результатов, объективно и полноценно отражают основные положения проведенных исследований, соответствуют поставленным задачам.

По материалам диссертации 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.

Основные материалы диссертации доложены на научно-практической конференции «Инновационные Российские технологии в геронтологии и гериатрии» (Санкт-Петербург, 2017); международном симпозиуме «Effective current approaches in anti-aging medicine and gerontology» (Stockholm, Sweden, 2018); XIII международном форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2018); XIV научно-практической геронтологической конференции «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2018); международном симпозиуме «Effective current approaches in anti-aging medicine and gerontology» (Stockholm, Sweden, 2019); XIV международном форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2019); международном конгрессе «International Association of Gerontology and Geriatrics European Region Congress» (Gothenburg, Sweden, 2019); Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 170-летию со дня рождения И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2019); Европейском конгрессе по превентивной регенеративной и антивозрастной медицине – ESCOPRAM (Геленджик, 2019); Всероссийском форуме с международным участием «Продуктивное долголетие: доказательная медицина и трансдисциплинарный синтез» (Москва, 2019); XV научно-практической геронтологической конференции «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2019); международном симпозиуме «Regenerative medicine and ageing» (Dubai, UAE, 2020).

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

В диссертационной работе Мироновой Екатерины Сергеевны получены важные приоритетные данные, характеризующие влияние пептидов AEDG и KED на репликативное старение и дифференцировку денальных стволовых клеток человека в нейрогенном направлении. Полученные автором данные свидетельствуют о том, что пептиды AEDG и KED могут быть использованы в качестве дополнительных веществ в культуральных средах с целью замедления репликативного старения постнатальных стволовых клеток *in vitro*, длительное культивирование которых необходимо для 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 культурах стволовых клеток периодонтальной связки и мезенхимальных стволовых клеток десны человека. Индуцированные стволовые клетки могут быть использованы в регенеративной медицине для трансплантации в поврежденную область нервной системы с целью профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с возрастом.

Замечания к работе

Диссертационная работа Мироновой Екатерины Сергеевны написана хорошим литературным языком, с интересом читается. Информация, содержащаяся в работе, изложена логично и последовательно, что делает ее восприятие более легким. Текст проиллюстрирован большим количеством репрезентативных, грамотно оформленных графиков и диаграмм, облегчающих представление и понимание численных данных. Отдельного внимания заслуживают иммунофлуоресцентные микрофотографии, представленные в работе: все они хорошего качества, информативны и содержательны. Таким образом, работа выполнена и оформлена на высоком научном и методическом уровне.

Принципиальных замечаний к работе нет. Исследование продумано, логично выстроено, цель достигнута, задачи решены, получены важные приоритетные научно-практические результаты в области молекулярной биологии старения и геронтологии.

Заключение

Диссертация Мироновой Екатерины Сергеевны на тему: «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать, как новое решение актуальной научной проблемы в области молекулярной геронтологии и клеточной биологии – изучение влияния коротких пептидов на репликативное старение и нейрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток человека. Работа открывает новые перспективы для применения пептидов в регенеративной медицине с целью снижения частоты возникновения нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с возрастом.

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 её автор – Миронова Екатерина Сергеевна – достойна присуждения искомой степени по специальностям: 14.01.30 – геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв ведущей организации о диссертации Е.С. Мироновой на тему: «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека» подготовил профессор кафедры общей физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, доктор биологических наук, профессор А.Д. Ноздрачев.

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании кафедры общей физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», протокол заседания № 2 от «12» октября 2020 г.

Профессор кафедры общей физиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, доктор биологических наук, профессор (Специальность 03.03.01 – физиология)


Ноздрачев Александр Данилович

Заведующий кафедрой общей физиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», доктор биологических наук, профессор (Специальность 03.03.01 – физиология)


Марков Александр Георгиевич

*Личные подлинники
Ноздрачева А.Д. и
Маркова А.Г. заверены
М.М. Марамышиной
Заведующей кафедрой
Физиологии
М.М.
12.10.2020.*

Сведения о ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Адрес: 199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7-9.

Телефон: +7(812)328-97-01.

e-mail: spbu@spbu.ru.

Веб-сайт организации: <https://spbu.ru/>.



ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(СПбГУ)

Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034
тел./факс 328-97-88
http://www.spbu.ru
ОКПО 02068516 ОГРН 1037800006089
ИНН/КПП 7801002274/780101001

Председателю диссертационного
совета Д 521.103.01 на базе
АННО ВО НИЦ «Санкт-
Петербургский институт
биорегуляции и геронтологии»
В.Х. Хавинсону

06.10.2020 № 01-119-1194

на № _____ от _____

О согласии

Уважаемый Владимир Хацкелевич!

В ответ на Ваше обращение (исх. СПБИБиГ от 10.09.2020 № 74/1) подтверждаю согласие Санкт-Петербургского государственного университета выступить ведущей организацией по 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 (биологические науки); и направляю сведения о Санкт-Петербургском государственном университете как ведущей организации, а также сведения о лице, утверждающем отзыв ведущей организации на данную диссертацию.

- Приложение: 1. Сведения о ведущей организации — на 2 л. в 1 экз.
2. Сведения о лице, утвердившем отзыв ведущей организации — на 1 л. в 1 экз.

Директор Центра экспертиз

А.В. Попов

Исполнитель:
Н.Ю. Климова,
Тел.: (812) 327-46-15

Сведения о ведущей организации

по кандидатской диссертации Мироновой Е.С. «Пептидергическая регуляция репликативного старения и нейрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток человека» по специальностям 14.01.30 — геронтология и гериатрия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки)

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербургский университет или СПбГУ
Ведомственная принадлежность	Правительство Российской Федерации
Почтовый индекс, адрес организации	199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7/9
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	www.spbu.ru
Телефон	+7 (812) 328-97-01
Адрес электронной почты	spbu@spbu.ru
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	<p>1.Быстрова Е.Ю., Платонова О.Н., Шпанская А.А., Дворникова К.А., Ноздрачев А.Д. Экспрессия Р-дефензина-1 в тканях толстой кишки крысы. Молекулярная медицина. 2019. Т. 17. № 6. С. 49-54.</p> <p>2.Дворникова К.А., Быстрова Е.Ю., Платонова О.Н., Ноздрачев А.Д. Полиморфизм генов TOLL-подобных рецепторов и ассоциированные с ним заболевания. Молекулярная медицина. 2019. Т. 17. № 6. С. 5-12.</p> <p>3.Дик О.Е., Крылов Б.В., Плахова В.Б., Ноздрачев А.Д. Модификация активационной системы NAV1.8 каналов обеспечивает молекулярный механизм антиноцицептивного ответа. Биофизика. 2018. Т. 63. № 6. С. 1141-1145.</p> <p>4.Филиппова Л.В., Федорова А.В., Ноздрачев А.Д. Механизм активации энтеральных</p>

	<p>ноцицептивных нейронов посредством взаимодействия рецепторов TLR4 И TRPV1. Доклады Академии наук. 2018. Т. 479. № 1. С. 99-102.</p> <p>5. Рыжова И.В., Ноздрачев А.Д., Тобиас Т.В., Вершинина Е.А. Растворимая гуанилатциклаза как ключевой фермент в модулирующем влиянии NO на метаболитные глутаматные рецепторы. Acta Naturae (русскоязычная версия). 2018. Т. 10. № 2 (37). С. 76-84.</p> <p>6. Masliukov P.M., Moiseev K., Budnik A.F., Nozdrachev A.D., Timmermans J.-P. Development of calbindin- and calretinin-immunopositive neurons in the enteric ganglia of rats. Cellular and Molecular Neurobiology. 2017. Т. 37. № 7. С. 1257-1267.</p> <p>7. Вахитов Т.Я., Чалисова Н.И., Ситкин С.И., Салль Т.С., Шалаева О.Н., Демьянова Е.В., Моругина А.С., Виноградова А.Ф., Петров А.В., Ноздрачев А.Д. Низкомолекулярные компоненты метаболома крови регулируют пролиферативную активность в клеточных и бактериальных культурах. Доклады Академии наук. 2017. Т. 472. № 4. С. 491-493.</p> <p>8. Дик О.Е., Крылов Б.В., Ноздрачев А.Д. Возможный механизм подавления пачечной активности в ноцицептивных нейронах. Доклады Академии наук. 2017. Т. 473. № 6. С. 728-731.</p> <p>9. Karetnikova E.S., Markov A.G., Jarzebska N., Weiss N., Rodionov R.N., Lentz S.R. Is homoarginine a protective cardiovascular risk factor? Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2019. Т. 39. № 5. С. 869-875.</p> <p>10. Markov A.G., Aschenbach J.R., Amasheh S. Claudin clusters as determinants of epithelial barrier function. IUBMB Life. 2015. Т. 67. № 1. С. 29-35.</p>
--	--

Верно

Директор Центра экспертизы



А.В. Попов

Приложение №2 к письму
от 06.10.2020 № 01-119-1194

Сведения о лице, утвердившем отзыв ведущей организации

Фамилия, имя, отчество	Микушев Сергей Владимирович
Ученая степень и отрасль науки, научные специальности, по которым им защищена диссертация	Кандидат физико-математических наук 01.04.07 – физика конденсированного состояния Физико-математические науки
Наименование организации, являющееся основным местом работы, должность	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства Российской Федерации. Проректор по научной работе.

Верно

Директор Центра экспертиз



Alexey

А.В. Попов