

ОТЗЫВ

официального оппонента, главного научного сотрудника «НИИ урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина» – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора Кирпатовского Владимира Игоревича на диссертацию Ремезовой Анны Николаевны на тему «Применение мезенхимных стволовых клеток в комплексном лечении туберкулеза почек (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.26. Фтизиатрия и 3.1.13. Урология и андрология

Актуальность избранной темы исследования. Болезни почек представляют собой серьезную социальную и медицинскую проблему. К одной из причин развития почечной недостаточности относят нефротуберкулез. Более чем в половине случаев результатом развития специфического воспалительного процесса является необратимое повреждение паренхимы, которое связано в том числе с распространением туберкулеза на близлежащие структуры (мочеточники) с образованием стриктур, а затем и формированием гидронефроза, лечение которого большей частью не обходится без проведения реконструктивно-пластических операций. Этот процесс усугубляет поздняя диагностика нефротуберкулеза, а также нефротоксическое действие противотуберкулезных препаратов.

В настоящее время различные исследования сосредоточены на изучении потенциала экзогенно введенных стволовых клеток различного происхождения в качестве метода терапии острого или хронического нарушения функции почек ишемической или токсической этиологии. Многочисленными исследованиями доказана перспективность использования клеточной терапии для ускорения восстановления функции почек при их остром повреждении, а также для профилактики перехода острого



повреждения почек в хроническую болезнь почек, а при уже имеющейся хронической почечной недостаточности профилактики ее прогрессирования. Уникальной способностью стволовых клеток является их способность преимущественно мигрировать к очагу повреждения за счет секреции хемотаксических агентов поврежденными клетками с наибольшим влиянием именно на поврежденный орган.

Доказано, что терапевтический эффект мезенхимных стволовых клеток преимущественно связан с влиянием продуктов их секреции (секретомом), которые представлены комплексом регуляторных пептидов и низкомолекулярных белков, влияющие на такие процессы, как клеточная пролиферация, апоптоз клеток, воспалительная реакция, склерозирование, иммуномодуляция, что способствует уменьшению выраженности функциональных нарушений и более быстрому восстановлению или стабилизации нарушенной функции органа. При этом показано, что терапевтическая эффективность терапии секретомом стволовых клеток, который может быть представлен средой культивирования стволовых клеток, биохимически выделенным клеточным экстрактом или выделенными внеклеточными везикулами, секретируемыми во внешнюю среду, не уступает эффективности традиционной клеточной терапии, а учитывая юридические и этические ограничения клинического применения низкодифференцированных клеток, это направление рассматривается как наиболее перспективное.

Однако в отношении возможности использования принципов клеточной терапии в отношении туберкулезного поражения почек научные данные существенно ограничены. Поэтому совершенно оправдан выбор темы исследований Ремезовой А.Н., направленно на обоснование возможности применения мезенхимных стволовых клеток и внеклеточных везикул в лечении экспериментального туберкулеза почки.

Таким образом, актуальность и целесообразность проведенного Ремезовой А.Н. исследования не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования определяется тем, что автором разработан принципиально новый способ моделирования локального туберкулеза почки при помощи малоинвазивной методики, который легок в воспроизведении и малотравматичен для лабораторных животных. На созданной модели нефротуберкулеза диссертантом впервые определены основные пути распределения мезенхимных стволовых клеток в органах и тканях здоровых и инфицированных животных, оценены преимущества использования комбинированной терапии с мезенхимными клетками по сравнению со стандартным противотуберкулезным лечением. Автором раскрыты патофизиологические особенности репаративных процессов при адьювантной терапии туберкулеза почек внеклеточными везикулами и экспериментально обоснована эффективность лечения нефротуберкулеза за счет структурных белков, входящих в состав внеклеточных везикул, выделенных из мезенхимных стволовых клеток.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы не вызывает сомнений. Полученные автором результаты доказывают целесообразность продолжения исследований по дальнейшей разработке методологии использования мезенхимных стволовых клеток и их секрета в виде внеклеточных везикул в качестве компонента комплексной терапии туберкулеза почек в клинической практике. Автором доказано преимущество комплексной терапии с мезенхимными клетками и внеклеточными везикулами в сравнении со стандартной противотуберкулезной терапией.

Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов

Для обработки результатов исследования использованы корректные методы статистического анализа, применены современные программные пакеты обработки данных. Исследование проведено на достаточном количестве экспериментальных животных с использованием исчерпывающего широкого спектра методов, соответствует основным государственным стандартам проведения доклинических исследований. Все

вышеперечисленное позволило автору обосновать выводы, обладающие необходимым уровнем статистической значимости.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена по стандартному плану, изложена на 150 страницах компьютерного текста, содержит 7 таблиц и 33 рисунка и состоит из введения, трех глав с изложением обзора литературы, материалов и методов исследования, а также результатов собственных исследований, заключения, выводов, перспектив дальнейшей разработки темы исследования и списка литературы. Список использованной литературы включает 233 источника, из них 173 зарубежных и 50 отечественных публикаций. Диссертационная работа оформлена согласно требованиям п. 30 «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», утвержденного приказом Минобрнауки России № 1093 от 10.11.2017 г. с изменениями, внесенными приказом №458 от 07.06 2021 г. Работа написана грамотным языком, легко доступна для восприятия.

Во введении автор формулирует актуальность исследования, цель, задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость и основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена обзору литературы. В ней описаны актуальные данные о современном состоянии распространенности туберкулеза, патогенезе туберкулезного поражения почек, функциональных последствиях и методах лечения нефротуберкулеза. Также подробно проанализированы методы экспериментального моделирования туберкулезного поражения почек с критическим анализом имеющихся моделей и обоснованием необходимости разработки более оптимальной методики моделирования этого заболевания. В отдельной главе подробно проанализированы возможности клеточной терапии в течении туберкулеза легких и различных заболеваний почек, а также терапевтическая эффективность и механизм его реализации при терапии внеклеточными

везикулами мезенхимных стволовых клеток. Обзор литературы позволяет полностью получить представление о современном состоянии проблемы, рассматриваемой в данной диссертации. Обзор заканчивается кратким заключением о недостаточности научных данных с возможности применения клеточной терапии в качестве компонента противотуберкулезной терапии и необходимости проведения дальнейших исследований.

Во второй главе «Материалы и методы» представлен дизайн исследования и характеристика лабораторных животных. Описана методика создания экспериментальной модели и способы верификации туберкулезного процесса. Подробно описаны методы культивирования мезенхимных стволовых клеток и получение внеклеточных везикул, а также методы, использованные для оценки эффективности комплексной противотуберкулезной терапии с включением клеточных продуктов. Для их оценки был использован комплекс самых современных методов исследования, включающий лучевые методы диагностики состояния почек (УЗИ, КТ), биохимические и иммунологические исследования с определением комплекса сигнальных молекул, участвующих в регуляции развития патологических и адаптивных процессов, морфологию и протеомный состав выделенных микровезикул, гистологические исследования в том числе с использованием метода конфокальной микроскопии.

Полученные данные были обработаны корректными методами статистического анализа.

В третьей главе приведены результаты исследования. Подробно обоснована эффективность разработанной оригинальной методики моделирования туберкулеза почки кролика с использованием миниинвазивного доступа. Было доказано, что при введении взвеси *M. tuberculosis* H37Rv в корковый слой нижнего полюса левой почки у кроликов закономерно развивается нефротуберкулез, что подтверждается данными клинических, иммунологических, лучевых, микробиологических и гистологических методов исследования.

Убедительно доказано положительное влияние экзогенного введения аллогенных костномозговых мезенхимных стволовых клеток на динамику туберкулезного процесса в почках, в том числе при использовании штамма, полирезистентного к основным противотуберкулезным химиопрепаратам. С использованием иммуногистологических методов автор доказала наличие жизнеспособных введенных стволовых клеток в отдаленном периоде после начала терапии, а также их способность мигрировать и накапливаться в очаге специфического воспаления. Выполняя анализ протеома внеклеточных везикул, были выявлены белки, связанные с иммунным ответом, антимикробной и противовоспалительной активностью.

Важными результатами являются полученные автором данные о выраженном влиянии внеклеточных микровезикул на иммунный статус организма и их противовоспалительный эффект, что способствовало эрадикации возбудителя и минимизации специфической воспалительной реакции.

Оценка результатов применения мезенхимных стволовых клеток и внеклеточных везикул показала их преимущество в лечении туберкулеза почек, которое выражалось в снижении распространенности специфического воспаления в почках, уменьшении его активности, ускорению репаративной реакции, и повышению уровня противовоспалительных цитокинов.

В **«Заключении»** А.Н. Ремезова подводит итоги проведенных исследований и показывает, что все поставленные задачи выполнены, а цель работы достигнута.

Выводы сформулированы четко и конкретно, вытекают из сущности исследования, соответствуют поставленным автором задачам работы и основным положениям, выносимым на защиту.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования амбициозны и понятны, направлены на скорейшее внедрение разрабатываемых биомедицинских продуктов, которые показали высокую

эффективность в лечении экспериментального туберкулеза почек, в рутинную клиническую практику.

По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 5 в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, согласно рекомендациям Минобрнауки России, 2 статьи в зарубежных журналах, индексируемых в международных системах WoS и Scopus, получен один патент на изобретение и зарегистрирована база данных. Результаты диссертационного исследования обсуждены на научных мероприятиях различного уровня. Работа Ремезовой А.Н. дважды признана победителем конкурса грантов Санкт-Петербурга для студентов, аспирантов, молодых ученых, молодых кандидатов наук, проводимом Комитетом по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга (Санкт-Петербург, 2022 и 2023 гг.).

Автореферат соответствует тексту диссертации, полностью раскрывает суть проделанной работы, содержит положения, выносимые на защиту, выводы, список работ, опубликованных по теме исследования.

Вопросы и замечания по диссертации. Принципиальных замечаний по работе нет. Возможно в разделе литературного обзора, посвященном терапевтическому действию мезенхимных стволовых клеток, можно было обсудить влияние источника этих клеток. в том числе из эмбриональных, фетальных, неонатальных органов и из взрослого организма, поскольку с увеличением зрелости органа свойства этих клеток могут меняться. Также возможно, следовало бы обсудить значимость иммуногенности пересаживаемых клеток, поскольку вводился аллогенный материал от взрослого донора.

На наш взгляд, важным моментом для обсуждения являются данные об увеличении степени склерозирования ткани почки на фоне уменьшения выраженности воспалительного инфильтрата в серии с терапией микровезикулами стволовых клеток. Автор интерпретирует эти данные как

фиброгенную трансформацию введенных мезенхимных стволовых клеток. На наш взгляд такие изменения можно трактовать как ускорение процесса репарации развившегося повреждения, поскольку альтерация ткани, формирование воспалительного инфильтрата и развитие склероза в области повреждения являются последовательными этапами репарации и более быстрое замещение поврежденной ткани соединительной тканью отражает более быстрое завершение патологического процесса. В этом случае вроде бы негативный эффект может трактоваться как позитивный.

В работе имеются ряд стилистических и орфографических погрешностей и опечаток, а иногда несоответствие данных текста и графиков.

При этом эти мелкие недочеты не влияют на общую положительную оценку выполненного исследования. Полученные диссертантом результаты обосновывают целесообразность и перспективность данного направления исследований и необходимость их продолжения, в том числе с изучением возможности повышения эффективности клеточной терапии за счет повторных введений стволовых клеток или их секрета.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа А.Н. Ремезовой на тему «Применение мезенхимных стволовых клеток в комплексном лечении туберкулеза почек (экспериментальное исследование)», выполненная под научным руководством доктора медицинских наук, профессора Т.И. Виноградовой и кандидата медицинских наук, доцента А.Н. Муравьева является научно-квалификационной работой, в которой изложены научно обоснованные возможности применения мезенхимных стволовых клеток и внеклеточных везикул в лечении экспериментального туберкулеза почки, что имеет существенное значение для фтизиатрии и урологии, открывает перспективы дальнейших доклинических и клинических исследований для последующего внедрения разработанных клеточных продуктов в практическое здравоохранение.

По своей актуальности, объему проведенного исследования, степени обоснованности научных положений, выводов и дальнейших перспектив исследования, их достоверности и новизне диссертация Ремезовой Анны Николаевны полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по научным специальностям: 3.1.26. Фтизиатрия и 3.1.13. Урология и андрология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник Научно-исследовательского института Урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
д.м.н., профессор

Кирпатовский Владимир Игоревич

«23» сентября 2024 г.

Подпись д.м.н., профессора Кирпатовского В.И. заверяю,
Зам. начальника отдела кадров ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Завадовская Т.Ю.

Адрес: 105425, Российская Федерация, г. Москва, ул. Парковая 3-я, д. 51, стр. 4

Тел.: 8(499) 110-40-67, e-mail: mnioi@mail.ru, сайт: <https://new.nmicr.ru>