

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника отделения общей и молекулярной патологии Научно-исследовательского института онкологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Кайгородовой Евгении Викторовны, на диссертационную работу Юровой Кристины Алексеевны «Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### Актуальность выполненной работы

Исследования на 3D культурах в клеточной биологии имеют большую актуальность, так как они более точно моделируют физиологические условия тканей в организме по сравнению с двумерными культурами. В 3D культурах клетки могут взаимодействовать друг с другом и с матрицей, что способствует более точному воссозданию микросреды клеток. Клетки, выращенные в 3D культуре, демонстрируют более сходные с *in vivo* ответы, что делает их поведение более представительным для исследований. Это позволяет изучать процессы, такие как дифференцировка клеток, миграция и взаимодействие клеток.

Исследование Юровой Кристины Алексеевны по теме "Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани" актуально, так как костная регенерация является важной медицинской проблемой, особенно в случаях травм, болезней или хирургических вмешательств.

Ремоделирование представляет собой естественный и непрекращающийся процесс образования новой кости за счет удаления старой. Проведенные исследования последних лет убедительно доказывают, что решающую роль в процессе ремоделирования играет клеточное микроокружение. Считается, что именно уровень цитокинов, хемокинов, факторов роста и других медиаторов является определяющим при выборе судьбы клеткой. Цитокиновое микроокружение воздействует на рецепторный аппарат клетки, что запускает изменения на уровне ядра и определяет степень активации или направленность дифференцировки. Тем не менее, до настоящего времени неизвестны тонкие механизмы костного ремоделирования, а также роль гемопоэтических стволовых клеток в описанном процессе.

Модуляция клеточного микроокружения может позволить сделать процесс костного ремоделирования, а также физиологической регенерации костной ткани, более управляемым и контролируемым.

Использование *in vitro* моделей позволяет изучать механизмы взаимодействия различных типов клеток при регенерации костной ткани, что может привести к разработке новых методов лечения и улучшению результатов восстановительной медицины. Кроме того, понимание кооперации между стволовыми и иммунными клетками может привести к развитию инновационных подходов к лечению различных заболеваний и травм костей.

Таким образом, тема диссертационной работы Юровой К.А. актуальна для реализации задач как фундаментальной, так и практической медицины, и посвящена изучению особенностей физиологической регенерации костной ткани, с выделением ключевой роли в этом процессе - гуморальных и межклеточных взаимодействий разных типов клеток.

### **Обоснованность научных положений и выводов**

Обоснованность представленных в диссертационной работе научных положений и выводов основывается на корректно поставленных задачах, применении адекватных и современных методов исследования, статистической обработке данных. Цель диссертации полностью решена и отражена сутью проведенных исследований, задачи соответствуют поставленной цели, выводы логично вытекают из полученных результатов и полностью отражают их содержание. Восприятие работы облегчает качественный иллюстративный материал.

Полученные автором данные представлены микрофотографиями высокого качества, графиками и таблицами, а также грамотно обсуждаются с использованием данных современной литературы по изучаемой проблеме. Достоверность полученных данных не вызывает сомнения.

В своей работе К.А. Юрова использовала современный методологический подход к планированию и проведению диссертационного исследования. Несомненным достоинством данной работы является проведение исследования на достаточном количестве материала, использованного в ходе исследования. Полученные научные данные апробированы и доложены на научных и научно-практических конференциях.

### **Личный вклад автора**

Автором проведено планирование и подбор модели исследования, сформулированы его цели и задачи, выполнен анализ отечественной и зарубежной

литературы, отражающей современное состояние изучаемой проблемы, определен методологический подход, позволяющий наиболее полно решить поставленные в исследовании задачи, самостоятельно выполнены все этапы работы. За исключением оговоренных исследований совместно с другими лицами, проведена статистическая обработка данных, интерпретированы и опубликованы результаты.

### **Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций**

Достоверность научных положений, выводов и заключения, полученных в диссертации, подтверждается достаточным объемом используемого материала, адекватно поставленным задачам, использованием современных экспериментальных методов исследования. Методы исследования диссертационной работы являются современными и способствовали решению поставленных задач. Полученные автором результаты были проанализированы с применением статистических методов в зависимости от характеристик сравниваемых выборок и исключая автокорреляцию. Вышеизложенное свидетельствует о достоверности полученных результатов и сформулированных выводов на их основе.

### **Научная новизна полученных результатов**

Юровой К.А. получены новые данные о роли трехмерного матрикса с кальций-фосфатным покрытием при сокультивировании с иммунокомпетентными и стромальными стволовыми клетками в статусе монокультур, а также в смешанной модели культивирования. Показано, что используемый трехмерный образец, имитирующий регенерирующую костную ткань, является физиологическим раздражителем не антигенной природы, который способствует повышению клеточной продукции биологически активных медиаторов, в том числе молекул с гемопоэтическим, а также с про- и противовоспалительным действием, что влечет за собой изменение экспрессии мРНК генов дифференцировки и созревания, как в иммунных, так и в стромальных стволовых клетках. Важно отметить, что описанные изменения ассоциированы с изменением рецепторного профиля исследуемых клеточных популяций. Юровой К.А. впервые показана взаимосвязь уровня экспрессии мРНК генов остеодифференцировки (*ALPL*) с ростом числа [CD45,34,14,20]<sup>+</sup> клеток в различных моделях культивирования. Актуальными являются данные, подтверждающие, что повышение уровня [CD45,34,14,20]<sup>+</sup> клеток обусловлено увеличением уровня гемопоэтических факторов роста (LIF, SCF, G-CSF и Eotaxin) в среде культивирования. Приоритетными являются данные об установлении связи между

повышением уровня остеокальцина с увеличением содержания клеток с морфологией кроветворных, на фоне увеличения площади очагов минерализации по истечении 21 суток культивирования. Безусловно, важными являются результаты исследования, подтверждающие, что развитие активного кооперативного взаимодействия иммунных и стромальных стволовых клеток обусловлены гуморальными факторами и межклеточными коммуникациями. Представляют интерес данные о том, что результатом кооперативного взаимодействия исследуемых субпопуляций клеток является формирование минерализованного костного матрикса, как прототипа системы «кость/костный мозг». Таким образом, результаты и выводы диссертационного исследования оригинальны и имеют важное значение для фундаментальных и практических исследований в области клеточной биологии.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные Юровой К.А. данные *фундаментального характера* раскрывают принципиально новые гуморальные и клеточные механизмы физиологической регенерации тканей в трехмерном формате, с уточнением ключевых кооперативных взаимодействий, реализуемых в экспериментальных условиях *in vitro* на межфазных границах между разными типами клеток, и прототипом естественного межклеточного вещества костной ткани, матрикса с кальций-фосфатным покрытием. Новые сведения об эффективном кооперативном взаимодействии стромальных стволовых и иммунных клеток, основанном как на привлечении гуморальных факторов, так и межклеточных контактах, способствует формированию базиса для разработки новой концепции тестирования новых материалов и персонализированного подхода в регенеративной медицине.

### **Общая характеристика работы**

Диссертация Юровой К.А. изложена на 250 страницах машинописного текста и состоит из традиционных разделов: введения, обзора литературы, материала и методов исследования; описания результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 20 таблицами и 20 рисунками. Список использованной литературы содержит 22 отечественных и 384 зарубежных источника. Структура и оформление диссертации полностью соответствует требованиям ВАК.



Во введении обосновывается актуальность диссертационного исследования, сформулированы его цель и задачи, научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** представлен новыми данными о процессах ремоделирования костной ткани, роли экстрацеллюлярного матрикса, а также искусственных имплантатов в регуляции клеточной жизнедеятельности. Юровой К.А. подробно описаны основные типы клеток, анализируемые в настоящем исследовании, в том числе – жизнедеятельность и гомеостаз стромальных стволовых клеток, остеобластов и гемопоэтических стволовых клеток.

**Вторая глава** посвящена характеристике использованного материала и методов исследования. Подробно представлен дизайн исследования, критерии включения и исключения, описаны используемые экспериментальные и статистические методы исследования. Материал и методы соответствуют поставленным задачам.

В **3 главе** описаны и проанализированы результаты, полученные в процессе количественной оценки содержания жизнеспособных, апоптотических и мертвых форм клеток в разных экспериментальных группах, а также молекул дифференцировки на клеточных мембранах. Приведен подробный анализ продукции медиаторов (хемокинов, про- и противовоспалительных цитокинов, факторов роста) и определен уровень относительной экспрессии мРНК генов дифференцировки в разных экспериментальных культурах клеток. Важное значение в работе Юровой К.А. имеет блок исследований, изучающий оценку уровня остеокальцина и суммарную площадь очагов минерализации в разных экспериментальных группах. Третью главу резюмирует анализ ассоциативных взаимосвязей, обнаруженных между исследуемыми показателями.

**Глава 4** посвящена исследованию особенностей взаимодействия монокультур исследуемых популяций клеток с трехмерным матриксом. Но основной акцент сделан на исследовании межклеточных взаимодействий смешанной культуры иммунных и стромальных стволовых клеток в присутствии трехмерного матрикса с кальций-фосфатным покрытием и без него. В главе представлены разработанные автором схемы об особенностях взаимодействия монокультур стромальных стволовых, а также иммунных клеток с трехмерным матриксом, имитирующим регенерирующую костную ткань. Также описываются особенности сокультивирования стромальных стволовых и иммунных клеток в присутствии трехмерного матрикса с кальций-фосфатным покрытием и без него. Соискателем демонстрируется заключительная схема, отражающая клеточные и молекулярные особенности формирования эффективной

кооперации стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани.

Девять выводов отражают результаты проведенных исследований, четко сформулированы, логичны, аргументированы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. По теме диссертации опубликовано 45 печатных работ, из них 19 статья в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и 26 статей и тезисов в материалах конференций и симпозиумов. Работа Юровой К.А. полностью соответствует паспорту научной специальности: 1.5.22. Клеточная биология.

Таким образом, диссертационная работа К.А. Юровой выполнена с использованием современных методов исследования и на достаточном объеме используемого материала.

Автореферат полностью отражают основные материалы диссертации. Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет. Имеются опечатки и стилистические погрешности.

В ходе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Почему для исследования иммунных клеток в эксперименте *in vitro* были выбраны только CD3+T клетки?
2. Чем обусловлены выбранные Вами сроки культивирования?
3. Чем, на Ваш взгляд, обусловлено увеличение содержания [CD45,34,14,20]+ клеток в экспериментальных смешанных культурах?
4. Какие практические рекомендации для клеточных биологов и специалистов в области регенеративной медицины можно сделать на основе полученных вами данных.

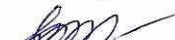
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Юровой Кристины Алексеевны «Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований, содержится решение актуальной научной проблемы, направленной на установление общих закономерностей и особенностей кооперативного взаимодействия иммунокомпетентных и стромальных стволовых клеток в условиях дистантного трехмерного сокультивирования *in vitro*, имеющей важное значение для развития соответствующей отрасли знаний - клеточной биологии.

Диссертация Юровой К.А. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 11.09.2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

*Согласна на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных.*

**Официальный оппонент:**

ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии  
Научно-исследовательского института онкологии - филиала Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской академии наук»  
д-р мед. наук, доцент  Кайгородова Евгения Викторовна

«12» марта 2024г

Подпись д.м.н. Кайгородовой Е.В.

«ЗАВЕРЯЮ»:

директор Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Томский национальный исследовательский  
медицинский центр Российской академии наук»  
академик РАН,  
д-р биол. наук, профессор  Степанов Вадим Анатольевич

Данные об авторе отзыва: Кайгородова Евгения Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии Научно-исследовательского института онкологии - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; 634009, г. Томск, пер. Кооперативный 5; тел. 8 (3822) 41-80-71, моб. т. +79609711613 e-mail: zlobine@mail.ru; kaigorodova@oncology.tomsk.ru.

## СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте докторе медицинских наук Кайгородовой Евгении Викторовне по диссертации Юровой Кристины Алексеевны на тему «**Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на in vitro модели регенерации костной ткани**», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология в диссертационном совете 21.2.068.03 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел./факс (+7 (382) 290-11-01 доб. 1568, E-mail: dissovet@ssmu.ru)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (с указанием организации, её ведомственной принадлежности, города); должность	Учёная степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	Учёное звание (по специальности, кафедре)	Шифр специальности и отрасли науки в совете	Основные работы
Кайгородова Евгения Викторовна	1981 г.р, РФ	ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии Научно-исследовательского института онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; 634009, г. Томск, пер. Кооперативный 5	Доктор медицинских наук (3.3.3-патологическая физиология; 1.5.22-клеточная биология)	доцент по специальности молекулярная биология		<ol style="list-style-type: none"> <li>Юнусова Н.В., Кайгородова Е.В., Кокорев О.В., Салахов Р.Р. Медицинские биотехнологии с основами молекулярной биологии (избранные лекции). – Томск, 2023.</li> <li>Ковалев О.И., Вторушин С.В., Кайгородова Е.В. Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса // Бюллетень сибирской медицины. 2023. Т. 22. № 2. С. 122-133.</li> <li>Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю. Применение многоцветной проточной цитометрии в жидкостной биопсии рака молочной железы // Бюллетень сибирской медицины. 2023. Т. 22. № 3. С. 165-170.</li> <li>Кайгородова Е.В., Заваруев И.С., Чернышова А.Л., Грищенко М.Ю. Прогностическая значимость атипичных/гибридных форм клеток</li> </ol>



EPСAM+CD45+ в крови у больных раком эндометрия // Опухоли женской репродуктивной системы. 2023. Т. 19. № 2. С. 104-108.

5. Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Чернышова А.Л., Заваруев И.С. Фенотипический спектр циркулирующих опухолевых клеток у больных раком тела матки: результаты клинического исследования // Вопросы онкологии. 2022. Т. 68. № 3S. С. 483-484.


6. Козик А.В., Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Вторушин С.В., Чернышова А.Л. EPСAM+CD45+ клетки в асцитической жидкости больных новообразованиями яичников: связь с уровнями онкомаркеров и степенью злокачественности // Сибирский онкологический журнал. 2022. Т. 21. № 5. С. 44-51.

7. Kaigorodova E. V., Kozik A. V., Zavaruev I. S., Grishchenko M. Y. HYBRID/ATYPICAL FORMS OF CIRCULATING TUMOR CELLS: CURRENT STATE OF THE ART // Biochemistry (Moscow). – 2022. – Т. 87. № 4. – С. 380-390. DOI: 10.1134/S0006297922040071

8. Stakheyeva M., Patsysheva M., Cherdyntseva N., Kaigorodova E., Zavyalova M., Tarabanovskaya N., Choynzonov E. Tumor properties mediate the relationship between peripheral blood monocytes and tumor-associated macrophages in breast cancer // Cancer Investigation. 2022.

9. Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л., Шпилёва О.В., Ковалев О.В., Вторушин С.В. Различные популяции ЕРСАМ-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза // Бюллетень сибирской медицины. 2021. Т. 20. № 2. С. 44-53.
10. Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Заваруев И.С., Чернышова А.Л. Оценка различных популяций ЦОК у больных раком эндометрия: первые данные клинического исследования  
ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04817501: тезисы XIII съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии // Евразийский онкологический журнал. – 2022. – Том 10, № 2 Прил. – С.265.
11. Кайгородова Е.В., Ковалев О.В., Чернышова А.Л., Вторушин С.В., Шпилёва О.В. Гетерогенность ЕРСАМ-положительных клеток в асцитической жидкости low-grade серозной карциномы яичников: клинический случай. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2021. – Т.17, №4. –С.90-95. <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2021-17-4-90-95>
12. Патент №2762493 от 21.12.2021  
Способ дооперационного прогнозирования риска рецидива у больных раком эндометрия Т1 стадии. Кайгородова Е.В., Чернышова А.Л., Заваруев И.С.
13. Кайгородова Е.В., Тарабановская Н.А., Гарбуков Е.Ю., Перельмутер В.М.

						Оценка взаимосвязи количества мезенхимальных стволовых клеток в крови у больных РМЖ до начала лечения с размером опухоли // Злокачественные опухоли. 2021. Т. 11. № 3S1. С. 30.
--	--	--	--	--	--	---

Официальный оппонент:  /Е.В. Кайгородова/

Кайгородова Евгения Викторовна – доктор медицинских наук (3.3.3; 1.5.22), доцент (1.5.3.), ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии Научно-исследовательского института онкологии - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; 634009, г. Томск, пер. Кооперативный 5, тел. 8 (3822) 41-80-71, моб. т. +79609711613 e-mail: zlobine@mail.ru; kaigorodova@oncology.tomsk.ru.

«11» марта 2024г.

Подпись д.м.н. Кайгородовой Е.В.  
«ЗАВЕРЯЮ»

директор Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Томский национальный исследовательский  
медицинский центр Российской академии наук»,  
академик РАН,  
д-р биол. наук, профессор



Степанов Вадим Анатольевич