



Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической иммунологии»  
**НИИФКИ**

Ядринцевская, 14,  
г. Новосибирск, 630099  
телефон: (383) 222-26-74, факс: (383) 222-70-28  
e-mail: info@niikim.ru  
www.niikim.ru

**«УТВЕРЖДАЮ»**  
Директор Федерального  
государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский  
институт фундаментальной  
и клинической иммунологии»,  
доктор биологических наук



  
А.Н. Силков

«14» 03 2024г

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» о научно-практической значимости диссертации Юровой Кристины Алексеевны «Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

#### **Актуальность темы выполненной работы**

Костная система является сложной, многокомпонентной структурой, которая не только обеспечивает функцию поддержания тела и изменения его положения в пространстве, но также взаимодействует с другими органами и системами. Костная ткань подвергается процессу ремоделирования и обновления на протяжении всей жизни человека, что имеет важное значение для сохранения прочности и гибкости костей. Доказано, что ремоделирование костной ткани происходит при участии клеток иммунной системы и стромальных стволовых клеток. Межклеточные взаимодействия между описанными клеточными популяциями формируют особое микроокружение, потенцирующее формирование так называемых остеобластных ниш. Для дифференцировки стромальных стволовых клеток в остеогенном направлении также крайне важны определенные химические и физические сигналы.

Формирование необходимых условий микроокружения под воздействием клеток иммунной системы способствует эффективному ремоделированию костной ткани. Тем не менее, до настоящего времени до конца неизвестна степень участия иммунных клеток в процессах физиологического ремоделирования кости. Исследование межклеточных взаимодействий в условиях *in vitro* является сложным процессом в связи с необходимостью культивировать несколько клеточных популяций в одной пробирке. Для изучения ремоделирования костной ткани также важно формирование условий трехмерной кооперации клеток с имитацией воздействия химических стимулов на исследуемые клетки. Создание трехмерных конструкций, близких по своему строению к экстрацеллюлярному матриксу, сильно затруднено в связи с ограниченными возможностями технологического производства.

В связи с вышесказанным, научная концепция исследования К.А. Юровой, посвященного комплексному исследованию межклеточного взаимодействия стромальных стволовых и иммунных клеток в условиях трехмерного культивирования *in vitro*, является современной и актуальной для фундаментальной и практической медицины.

### **Связь выполненной работы с планами соответствующих отраслей науки**

Диссертационная работа К.А. Юровой посвящена изучению механизмов кооперативного взаимодействия иммунных и стволовых клеток в условиях дистантного сокультивирования *in vitro* в присутствии трехмерного матрикса, имитирующего регенерирующую костную ткань. Исследование соответствует современному направлению медицинской науки и практики. Диссертационная работа Юровой К.А. выполнена согласно плану НИР Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», на базе Центра иммунологии и клеточных биотехнологий.

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом БФУ им. И. Канта (протокол №1 от 28.02.2019). В работе приводятся фрагменты

научно-исследовательских работ Российского научного фонда (№16-15-10031, №18-75-00071), Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ (НШ- 2495.2020.7), Государственного задания (№ FZWM-2020-0010), Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых-кандидатов наук (МК-2452.2019.4), Совета по стипендиям Президента Российской Федерации для поддержки молодых ученых и аспирантов (СП-4384.2016.4).

### **Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа К.А. Юровой удовлетворяет критериям фундаментальных исследований. Основу исследования составляет изучение клеточных и молекулярных механизмов, определяющих формирование эффективной межклеточной кооперации стромальных стволовых и иммунных клеток в условиях культивирования *in vitro*. Научная новизна работы К.А. Юровой обусловлена рядом фактом, полученных соискателем впервые. Так, соискателем впервые показано, что иммунокомпетентные клетки при совместном культивировании со стромальными стволовыми клетками в трехмерной культуре подвергаются процессам дифференцировки на фоне снижения процессов активации (что подтверждается снижением числа активированных [CD3CD25]<sup>+</sup> и [CD3CD71]<sup>+</sup> клеток на фоне увеличения [CD3CD45R0]<sup>+</sup> и [CD3CD95]<sup>+</sup> клеток. Автором впервые получены данные о роли межклеточных взаимодействий стромальных стволовых и иммунных клеток в присутствии трехмерного матрикса в формировании Т-лимфоцитов иммунной памяти с фенотипом [CD3CD45R0]<sup>+</sup>. Юровой К.А. впервые выявлено, что иммунокомпетентные клетки в присутствии трехмерного матрикса потенцируют продукцию гемопоэтинов (LIF, SCF, G-CSF и Eotaxin) стромальными стволовыми клетками. Кроме того, показано, что описанные процессы происходят на фоне увеличения числа [CD45,34,14,20]<sup>+</sup> клеток. Приоритетными в работе являются данные, доказывающие, что наиболее

эффективная дифференцировка стромальных стволовых клеток в остеогенном направлении детектируется в условиях трехмерного культивирования в присутствии иммунных клеток. Об этом свидетельствует снижение количества CD73+ и CD90+ клеток, в совокупности с повышением уровня экспрессии мРНК генов остеодифференцировки (*ALPL* и *SMURF*), а также увеличение продукции остеокальцина и площади очагов минерализации в смешанных трехмерных культурах. Выводы и основные положения, представленные в работе К.А. Юровой, сформулированы кратко, соответствуют поставленным целям и задачам, отражают содержание диссертационной работы, ее основные этапы и научную новизну полученных результатов.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Значимость полученных К.А. Юровой результатов, выводов, положений и практических рекомендаций не вызывает сомнения. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.22. Клеточная биология, так как в ней охарактеризованы межклеточная и внутриклеточная сигнализация и рецепторные системы клеток, процессы пролиферации клеток и клеточной гибели, стволовые клетки, регуляция их жизненного цикла, функции, а также закономерности клеточной дифференцировки и регуляции процессов тканевой регенерации. Кроме того, выводы и выносимые на защиту положения расширяют фундаментальные представления об особенностях межклеточной кооперации стромальных стволовых и иммунных клеток в модели регенерации костной ткани.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Научные положения и выводы диссертационной работы К.А. Юровой актуальны для специалистов в области клеточной биологии, тканевой биоинженерии, регенеративной биомедицины и персонализированной терапии.

Материалы диссертации могут быть использованы в программах обучения студентов медицинских и биоинженерных специальностей, а также представляют интерес для научных организаций, которые специализируются на изучении и тестировании материалов для биоинженерии костной ткани.

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе образовательного научного кластера «Институт медицины и наук о жизни (ОНК МЕДБИО)» БФУ им. И. Канта г. Калининград, а также в научно-исследовательской работе лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии ИЭГМ УрО РАН г. Пермь.

Диссертационная работа Юровой К.А. выполнена с высокой степенью достоверности полученных результатов на достаточном объеме материала исследования, с использованием современных высокоинформативных методов. Цель исследования сформулирована корректно и убедительно вытекает из современного состояния проблемы, которая полно и информативно отражена в представленном обзоре литературы. Задачи четко сформулированы и необходимы для решения поставленной цели, что формирует представление о работе, как о целостном законченном исследовании. Основные положения диссертационного исследования позволяют рассчитывать на их широкое использование в практической деятельности научно-образовательных и научно-исследовательских учреждений.

Автор принимала участие в разработке и выполнении всех этапов научно-исследовательской работы, а также подготовке к публикации научных материалов по теме диссертации (тезисы, статьи). Оформление диссертации и автореферата выполнены автором самостоятельно. Диссертационная работа характеризуется обоснованным выбором цели и задач исследования, логической последовательностью изложения, внутренним единством и изложена на 250 страницах машинописного текста, иллюстрирована 20 таблицами и 20 рисунками.

### **Структура и содержание работы**

Работа состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение

полученных результатов), заключения, содержит выводы и список литературы, который включает 22 ссылки на отечественные и 384 ссылки на зарубежные источники, 30% которых опубликовано за последние 5 лет. Во введении обоснованы актуальность темы исследования, степень разработанности темы, цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы диссертационного исследования, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора. **В главе «Обзор литературы»** изложены современные представления по направлению диссертационной работы, которые в полной мере отражают состояние проблемы, а также актуальность и целесообразность выполнения исследования. **В главу «Материал и методы»** включены характеристика объекта и материала исследования, достаточно подробное описание проведенных методов исследования и статистической обработки полученных результатов. Выбранные автором статистические методы и подходы представляются оптимальными и целесообразными. В главе, описывающей **результаты собственных исследований**, полученные фактические данные изложены детально и обстоятельно, большая часть представлена в виде таблиц. Анализ, обобщение результатов и их обсуждение с использованием данных литературы освещены полно, логично и последовательно. **В заключении** работы автор представила схему, описывающую клеточные и молекулярные аспекты, определяющие формирование эффективной кооперации стромальных стволовых и иммунных клеток человека на *in vitro* модели регенерации костной ткани.

Автореферат отражает содержание и основные разделы диссертационной работы. Результаты проведенного исследования широко обсуждены научной и медицинской общественностью на всероссийских и международных симпозиумах и научно-практических конференциях. По теме диссертации опубликовано 45 научных работ, из них 19 статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК РФ, а также 26 статей и тезисов в материалах конференций и симпозиумов, в которых полностью отражены результаты исследования.

## Замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных замечаний к диссертационной работе К.А. Юровой нет. Однако в ходе ее изучения возникли следующие вопросы, которые хотелось бы обсудить:

1. Что подразумевает автор под термином «дистантная 3D-модель»?
2. За счет каких механизмов, по мнению автора, может происходить увеличение количества клеток с фенотипом гемопоэтических в смешанной 3D модели?
3. В работе отсутствует обоснование использования Т-лимфоцитов для изучения взаимодействия иммунных и стромальных стволовых клеток, а данные о сохранности монокультуры Т-клеток в течение 14 суток выглядят немного фантастическими.
4. Чем обусловлен выбор жировой ткани как источника МСК, а не костномозговых МСК с априори более высоким остеогенным потенциалом? Как Вы считаете, повлияет ли и если повлияет, то каким образом, использование костномозговых МСК в представленной автором модели?

## Заключение

Диссертационная работа Юровой Кристины Алексеевны «Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на *in vitro* модели регенерации костной ткани», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является научно-квалификационной работой, в которой на основе выполненных автором исследований и полученных результатов сформулированы теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое решение крупной научной проблемы, раскрывающей новейшие механизмы кооперативных взаимодействий разных типов клеток в модели регенерации костной ткани, что имеет важное значение для клеточной биологии, регенеративной биомедицины, биоинженерии, и, в целом, для современной медицины.

Достоверность и объективность полученных данных, их научная и

практическая значимость не вызывает сомнений и позволяет считать, что диссертационная работа Юровой Кристины Алексеевны соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Юрова Кристина Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв обсуждён и одобрен на расширенном заседании лабораторий клеточной иммунотерапии и клинической иммунопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), протокол № 4 от 14 марта 2024 года.

Доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник  
лаборатории клеточной иммунотерапии  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической иммунологии»

 Е.Я. Шевела

«14» 03 2024 г.

Подпись д.м.н., вед. н. с. Шевела Е.Я. заверяю  
Ученый секретарь НИИФКИ  
Кандидат биологических наук  
«14» 03 2024 г.



 Е.Д. Гаврилова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Адрес: 630099, Новосибирская обл., Новосибирск г., Ядринцевская ул., дом 14, тел. +7(383) 222-26-74, официальный сайт: [www.niikim.ru](http://www.niikim.ru), e-mail: [info@niikim.ru](mailto:info@niikim.ru), e-mail: [shevelak@mail.ru](mailto:shevelak@mail.ru)



Приложение  
к письму ФГБНУ «НИИФКИ»  
от 26.12. 2023 № 02-04/656  
«О согласии организации  
выступить в качестве ведущей»

**СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**  
в аттестационное дело Юровой Кристины Алексеевны

Диссертация на тему «**Кооперация стромальных стволовых и иммунных клеток на in vitro модели регенерации костной ткани**» на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности **1.5.22. Клеточная биология**

Полное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание руководителя организации	Силков Александр Николаевич – доктор биол. наук, директор НИИФКИ
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание заместителя руководителя организации	Черных Елена Рэмовна – доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, зам. директора института по научной работе
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание, должность сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Шевела Екатерина Яковлевна - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммуноотерапии НИИФКИ
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных журналах за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Shevela E.Ya., Glebova T.R., Kotova M.A., Nitsa N.A., Kozhevnikov Yu.A., Meledina I.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Comparative efficacy of the stromal-vascular fraction cells of lipoaspirate and hyaluronic acid in the treatment of gonarthrosis: results of an interim analysis // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2022. – Т. 174, № 1. – С. 131-136.</li> <li>2. Ращупкин И.М., Максимова А.А., Шевела Е.Я., Черных Е.Р. Влияние растворимых факторов макрофагов человека на пролиферацию клеток SH-SY5Y в условиях, моделирующих ишемию и гипоксию in vitro // Патогенез. 2022. Т. 20. № 3. С. 115-116.</li> <li>3. Желтова О.И., Шевела Е.Я., Меледина И.В., Черных Е.Р. Первый опыт использования мезенхимальных стромальных клеток липоасpirата в комплексном лечении пациентов с циррозом печени // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25, № 2. – С. 167-172.</li> <li>4. Кирикович С.С., Левитес Е.В., Долгова Е.В., Проскурина А.С., Риттер Г.С., Рузанова В.С., Леплина О.Ю., Шевела</li> </ol>

- Е.Я., Останин А.А., Рябичева Т.Г., Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Вараксин Н.А., Черных Е.Р., Богачев С.С. Влияние GCMAF-RF на ex vivo поляризацию макрофагов, активацию дендритных клеток и продукцию цитокинов клетками цельной крови человека // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 257-274.
5. Максимова А.А., Шевела Е.Я., Сахно Л.В., Тихонова М.А., Останин А.А., Черных Е.Р. Влияние секрета различных функциональных фенотипов макрофагов на пролиферацию, дифференцировку и коллагенпродуцирующую активность дермальных фибробластов in vitro // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171, № 1. – С. 64-68.
6. Shevyrev D., Tereshchenko V., Blinova E., Knauer N., Pashkina E., Sizikov A., Kozlov V. Regulatory T cells fail to suppress fast homeostatic proliferation in vitro // Life. – 2021. – V. 11(3). – P. 245.
7. Pashkina E., Aktanova A., Blinova E., Mirzaeva I., Kovalenko E., Knauer N., Ermakov A.A., Kozlov V. Evaluation of the Immunosafety of Cucurbit [n] uril on Peripheral Blood Mononuclear Cells In Vitro //Molecules. – 2020. – Т. 25. – №. 15. – С. 3388.
8. Blinova E.A., Kolerova A.V., Kolerova A.V., Kozlov V.A. In vitro maintaining of cd4+ central and effector memory cells in normal and inflammatory conditions // Medical Immunology. – 2020. – Vol. 22(5). – P. 837–846.
9. Барковская М. Ш., Блинова Е. А., Гришина Л. В., Леонова М. И., Непомнящих В. М., Демина Д. В., Козлов В. А. Содержание CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> эффекторных клеток памяти и пролиферативная активность т-лимфоцитов при бронхиальной астме //Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21. – №. 3
10. Шевырев Д. В., Блинова Е. А., Козлов В. А. Влияние гуморальных факторов гомеостатической пролиферации на Т-регуляторные клетки in vitro //Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18. – №. 1.
11. Маркова Е. В., Савкин И. В., Анисеева О. С., Козлов В. А. Пролиферация и апоптоз лимфоцитов у экспериментальных животных после многократной трансплантации клеток иммунной системы, проведенной в ювенильный период развития //Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18. – №. 2.
12. Селедцова Г.В., Иванова И.П., Кожевников Ю.А., Белгородцев С.Н. Использование аутологичных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в лечении больных хроническим остеомиелитом длинных костей // Гены и Клетки. 2019. - Т. 14. - № 5. - С. 208.
13. Хабалова Т.С., Кашенко Э.А., Селедцова Г.В. Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и ими продуцируемых микровезикул (МВ) на содержание Т-клеток памяти и Т-регуляторных клеток в

	модели острой почечной недостаточности(ОПН) мышей // Российский иммунологический журнал. 2019. - Т. 13(22). - № 2. - С. 960-962.
--	--

Адрес ведущей организации	
индекс	630099
объект	ФГБНУ "НИИ фундаментальной и клинической иммунологии"
город	Новосибирск
улица	Ядринцевская
дом	14
телефон	8 (383) 222-26-74, 8 (383) 222-66-27
e-mail	info@niikim.ru
Web-сайт	niikim.ru

Ведущая организация подтверждает, что согласно требованию п.24 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842:

1. соискатель ученой степени, научные руководители (научные консультанты) не работают в ведущей организации;
2. в ведущей организации не ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или работником организации-заказчика или исполнителем (соисполнителем).

Директор НИИФКИ  
доктор биологических наук



А.Н. Силков

«26» декабря 2023 года