

В диссертационный совет ПДС 0300.025
При Федеральном государственном автономном
Образовательном учреждении высшего образования
«Российский университет дружбы народов
Имени Патриса Лумумбы»
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, главного научного сотрудника, заведующей
Центром клеточных технологий Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института цитологии Российской академии наук

Михайловой Натальи Аркадьевны

на диссертационную работу Монаковой Анны Олеговны на тему
«ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ
СЕКРЕТОМА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НАРУШЕНИЙ СПЕРМАТОГЕНЕЗА»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4. Биохимия, 3.3.6. Фармакология и клиническая
фармакология

Диссертационная работа Монаковой Анны Олеговны посвящена изучению состава и роли компонентов секретома мезенхимных стромальных клеток (МСК) жировой ткани человека в восстановлении сперматогенеза. Целью работы было получение лекарственной формы препарата на основе концентрированного секретома МСК, приготовленного в виде стандартизованного лиофилизованного образца, и показать его эффективность и безопасность при применении на животных. В работе сформулировано пять амбициозных задач, которые автор запланировал самостоятельно для решения и, которые говорят о научной смелости и высоком уровне научной подготовки и квалификации Анны Олеговны.

В первую очередь мне хотелось бы отметить несколько ключевых достижений диссертанта, которые позволили практически безупречно выполнить поставленные в работе задачи и достичь главной цели. Автором была разработана и оптимизирована экспериментальная модель токсического повреждения сперматогенеза у мышей с использованием доксорубина, повреждающего нишу сперматогониальных стволовых клеток. Выбор релевантной модели позволил в дальнейшем изучить клеточные и

молекулярные механизмы терапевтического действия секрета МСК, провести поиск суррогатного фактора и оценить эффективность препарата.

Еще одним достижением автора можно считать результаты работы по получению фракций из семенников мышей и крыс, обогащенных клетками Лейдига, и создание клеточной модели для оценки специфической активности секрета МСК на клетках Лейдига. *In vitro* показано, что секретом МСК восстанавливает секрецию тестостерона клетками Лейдига. Данная модель позволила провести количественные оценки ключевых компонентов в составе секрета МСК с использованием целого арсенала биохимических и молекулярных методов исследования.

Анной Олеговной показано, что первичной мишенью для секрета МСК являются именно клетки Лейдига. Ранее было показано, что такие компоненты секрета как VEGF и GDNF важны и задействованы для регенерации ниш стволовых клеток других тканей. В данной работе, с использованием ингибиторного анализа, автором был показан вклад VEGF в восстановление сперматогенеза, именно VEGF оказался суррогатным фактором, который подтвердил биологическую активность секрета. Также в работе показано опосредованное участие компонента внеклеточных везикул микроРНК-21 в эффектах секрета на клетках Лейдига.

Полученные в работе данные легли в основу стандартизации препарата на основе секрета МСК. В исследованиях общей токсичности, фармакологической безопасности, а также при локальном введении, показано, что препарат на основе секрета хорошо переносится животными, не обладает репродуктивной токсичностью. Результаты, полученные в работе Монаковой А.О. поданы в составе документов на проведение регистрационных клинических исследований. Здесь необходимо отметить личный вклад автора в получение практически значимого важного результата.

Диссертационная работа Анны Олеговны Монаковой представляет собой образец высококвалифицированной работы и законченный научный труд. Работа написана на 140 страницах текста, содержит 22 рисунка, 42 таблицы в тексте и 4-х Приложениях. Работа оформлена в соответствии с действующими правилами ВАК. Иллюстрации и текст четкие и хорошего качества. Особо хочу отметить отличное качество подписей к рисункам, которое позволяет быстро разобраться в представленных материалах и оценить их достоверность. Ссылки на оригинальные исследования приведены в соответствии с текстом и по существу. Автореферат соответствует содержанию диссертации и содержит все необходимые разделы.

А.О. Монаковой принадлежит ключевая роль в постановке целей и задач, планировании и проведении экспериментальной работы и статистической

обработке полученных данных. Написание диссертации, 9 публикаций по теме диссертации и патентной заявки автором выполнено лично. Результаты диссертационной работы были широко представлены для обсуждения на научных мероприятиях разного ранга – от всероссийских до международных (всего представлено более 15 докладов на русском и английском языках).

Актуальность темы диссертационной работы Анны Олеговны Монаковой очевидна, поскольку связана с решением актуальной задачи - улучшения репродуктивного здоровья населения РФ, в том числе связанного с устранением причин мужского бесплодия. Демографические проблемы создают значительные вызовы для экономики и безопасности страны, а также для здравоохранения. При этом терапия идиопатических форм остается нерешенной медицинской проблемой в силу все еще недостаточно изученных причин. Некоторые формы идиопатического мужского бесплодия могут быть связаны с дисфункцией ниши сперматогониальных стволовых клеток (ССК). Существующие терапевтические подходы носят эмпирический характер и практически не направлены на восстановление клеточного микроокружения. Для восстановления функции ниши стволовых клеток могут быть применены подходы регенеративной медицины, в частности введение секрета мезенхимных стромальных клеток (МСК). Однако для обоснованного перехода к клиническому применению препаратов на основе секретов необходимо решить ряд фундаментальных задач, связанных с изучением их эффективности и безопасности, установлением молекулярно-клеточных механизмов действия и разработкой критериев стандартизации. Этим вопросам и посвящена работа Монаковой А.О. Результаты фундаментальных исследований стали основой для разработки лекарственного препарата и метода лечения мужского бесплодия, что демонстрирует высокую практическую значимость представленной работы.

Достоверность и новизна результатов диссертации

В диссертационной работе впервые установлена перспективность применения оригинального биологического препарата на основе секрета МСК человека для коррекции тяжелых нарушений сперматогенеза. Анной Олеговной Монаковой отработана модель токсического повреждения сперматогенеза доксорубицином и впервые выявлены возможные молекулярно-клеточные мишени и механизмы, опосредующие фармакологические эффекты препарата на основе секрета МСК. В работе впервые выявлено значение микроРНК-21 и VEGF для реализации фармакологических эффектов секрета МСК, а также предложен метод биологической стандартизации препарата на основе секрета МСК на клеточной модели с клетками Лейдига. Автором детально изучены основные внутриклеточные сигнальные механизмы, опосредующие действие секрета МСК на клетках Лейдига *in vitro*. Впервые исследована безопасность препарата на основе секрета МСК человека на трех видах животных.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения. Проверка гипотез произведена на сериях независимых научных экспериментов с необходимым и достаточным числом повторов, разнообразных контролей к каждой серии экспериментов и с использованием достаточного количества экспериментальных животных. Инструменты статистической обработки результатов соответствуют типу анализируемых данных, что подтверждает достоверность полученных результатов. Полученные результаты обработаны и проанализированы с помощью современных методов с использованием статистических программ, подтверждающих надежность полученных данных.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертация выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне и представляет собой законченное оригинальное исследование. Научные положения, рекомендации и выводы, сформулированные автором в диссертации, находят обоснование в результатах исследования. Представленные в диссертации данные и выводы соответствуют цели и задачам работы, основные положения логичны и обоснованы, а их достоверность не вызывает сомнений.

Ценность для науки и практики результатов работы

Раскрытие механизмов участия МСК в регуляции ниши сперматогониальной стволовой клетки позволяет, с одной стороны, углубить понимание фундаментальных принципов регенерации семенников, а с другой стороны, способствует развитию новых подходов регенеративной медицины, разработке и созданию биологических лекарственных препаратов. Таким образом, работа, направленная на изучение клеточно-молекулярных механизмов действия секрета МСК, идентификацию его мишеней и обоснование критериев стандартизации, является значимой как с фундаментальной точки зрения (понимание механизмов регенерации ниши сперматогониальных стволовых клеток), так и с прикладной — для создания эффективного и безопасного отечественного лекарственного препарата.

Предложена и валидирована оригинальная модель для биологической стандартизации препарата на основе секрета МСК по показателю специфической активности. Установлено, что препарат на основе секрета МСК человека обладает благоприятным профилем безопасности и рекомендован для дальнейшего клинического изучения.

Большим достижением автора можно считать то, что полученные ею научные результаты были использованы при подготовке комплекта документов, поданного в Министерство здравоохранения РФ, на проведение регистрационных клинических исследований препарата на основе секрета МСК для лечения мужского бесплодия, по итогам экспертизы которых было получено разрешение на клинические исследования I/II фазы (№328 от 14 августа 2024 г.).

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По результатам диссертационного исследования опубликовано 9 статей, из них – 4 статьи в высокорейтинговых журналах, индексируемых в международных научных базах Scopus и Web of Science, с максимальным импакт-фактором журнала $IF=7,872$. Все опубликованные результаты представлены в соответствующих разделах диссертации. По результатам диссертационного исследования получен и опубликован 1 патент РФ на изобретение «Тест-система для оценки стимуляции секреторной активности модельных клеток терапевтическими агентами, направленными на восстановление сперматогенеза».

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы. Материал изложен последовательно и структурированно, автореферат проиллюстрирован достаточным числом рисунков и таблиц, что обеспечивает полноценное восприятие основных результатов, положений и выводов диссертационной работы.

Во время прочтения работы возник **вопрос и лишь небольшие технические замечания**, которые не влияют на общее положительное впечатление и высокую оценку работы:

Вопрос: Можно ли считать, что вклад (роль) микроРНК-21 в фармакологический эффект секрета МСК будет универсальным при разработке иных терапевтических стратегий? Может ли, по вашему мнению, быть перспективным подход с модуляцией уровня микроРНК-21?

В списке литературы, под номером 115 (стр. 115) цитируется работа диссертанта, опубликованная в *Biomedical Journal* в 2022 году, однако в статье отсутствуют выходные данные.

Общепринятая для биологов аббревиатура ITS (Internal Transcribed Spacer) традиционно используется для обозначения внутренних транскрибируемых спейсеров между рибосомальными генами. В данной работе аббревиатура ITS (Insulin-Transferrin-Selenite) вводит в заблуждение и кажется излишней, можно было оставить без сокращения (стр. 59).

Заключение

Диссертационное исследование Монаковой Анны Олеговны «Эффективность и безопасность препарата на основе секрета мезенхимных стромальных клеток человека для восстановления нарушений сперматогенеза» является законченной научно-квалификационной работой, в которой

содержится новое решение научной задачи по изучению роли секретома мезенхимных стромальных клеток в восстановлении сперматогенеза, имеющей важное значение для создания новых лекарственных препаратов и высокотехнологичных методов лечения бесплодия и способствует репродуктивному здоровьесбережению населения РФ.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Монакова Анна Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.3.6. Фармакология и клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

главный научный сотрудник,
заведующая Центром клеточных технологий
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института цитологии
Российской академии наук

доктор биологических наук
по специальности 03.02.04 «Зоология»,
доцент по специальности 03.00.25 «Клеточная биология,
гистология, цитология»

Михайлова Наталья Аркадьевна

Подпись Михайловой Натальи Аркадьевны заверяю.
Ученый секретарь ИНЦ РАН, к.б.н.,



Бердиева М.А.

«25» марта 2026 г.

194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д. 4. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук
Телефон: +7 (812) 297-18-29, e-mail: cellbio@incras.ru
Михайлова Наталья Аркадьевна. e-mail: natmik@mail.ru