



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
федеральное государственное бюджетное учреждение  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ  
ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОГАЧЕВА»**  
(ФГБУ «НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента  
на диссертационную работу**

**Шипуновой Ирины Николаевны «Иерархическая структура стромального микроокружения кроветворной ткани в норме и при заболеваниях системы крови», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови**

### **Актуальность темы исследования**

Исследования состояния кроветворного микроокружения при заболеваниях системы крови находятся в последние годы на переднем плане экспериментальной и клинической гематологии. С одной стороны, необходимо выяснить, существует ли вклад нарушений (если они выявляются) в клетках кроветворной стромы в патогенез заболеваний, с другой – вызывают ли патологические кроветворные клетки изменения в стромальных клетках. Последствия применения химиотерапевтических препаратов, применяемых для достижения ремиссии заболеваний системы крови, для медленно обновляющихся клеток кроветворной стромы также неясны. В свою очередь, исследование патологических изменений невозможно без предварительного глубокого изучения кроветворного микроокружения в здоровом организме. Представленная диссертационная работа, несомненно, актуальна. Изучение иерархического устройства отдела стромальных клеток, механизмов их взаимодействия, и возможных путей регуляции необходимо для полного представления о функционировании кроветворной системы. Актуальными и востребованными также являются данные об изменениях, происходящих со стромальными предшественниками с возрастом. Полученные результаты могут обеспечить исследователей и врачей информацией, необходимой для усовершенствования подходов к компенсации возрастных изменений, а также возникших в ходе развития патологических процессов.

Таким образом, работа Шипуновой И.Н., направленная на изучение устройства отдела стромальных предшественников и изменений, происходящих в этом отделе в норме и при заболеваниях системы крови, является актуальной.

### **Научная новизна исследования**

И. Н. Шипунова исследовала несколько типов стромальных клеток-предшественниц в костном мозге мыши и человека в норме и при таких гематологических заболеваниях, как апластическая анемия и острые лейкозы. Стромальные предшественники в нормальном костном мозге человека были охарактеризованы на большой выборке здоровых доноров разного возраста,

сбалансированной по полу. Это дало автору возможность сравнить разные типы предшественников у мужчин и женщин, а также в разных возрастных группах. Объем выборки проанализированных образцов костного мозга здоровых доноров уникален для подобного рода исследований, что делает результаты данной работы, безусловно, достоверными. Исследование стромального микроокружения у пациентов выявило не описанные ранее изменения. Впервые на большой выборке больных апластической анемией (нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой формами) были комплексно проанализированы изменения, происходящие со стромальными клетками-предшественницами. Костный мозг получали у пациентов на разных этапах течения заболевания. И. Н. Шипуновой впервые был продемонстрирован феномен функциональной активации стромальных предшественников, в то время как в костном мозге наблюдалась аплазия кроветворной ткани. Однако, необходимо отметить, что группа исследованных больных, хотя и была довольно велика, но довольно разнородна по тяжести заболевания и этапам лечения. Тем не менее, учитывая невысокую частоту встречаемости данного заболевания, проанализированная выборка пациентов является уникально большой. Это позволяет автору сделать достоверные выводы. Данная тема все еще остается малоизученной, и хотелось бы в будущем увидеть подтверждение полученным результатам на более однородной выборке пациентов, например, только в дебюте заболевания. Такой дизайн позволит автору однозначно установить вклад стромальных предшественников в патогенез апластической анемии. Также впервые Ириной Николаевной были охарактеризованы изменения, происходящие со стромальными предшественниками до и после выполнения пациентам трансплантации аллогенного костного мозга. Оригинальность и принципиальное отличие выполненной работы от других опубликованных в мировой литературе исследований заключается в том, что стромальные клетки-предшественницы были проанализированы у каждого пациента индивидуально и в динамике: до выполнения трансплантации (перед началом предтрансплантационного кондиционирования), и на нескольких временных точках в течение года после нее. Выбор точек для анализа оправдан клиническими протоколами мониторинга пациентов после трансплантации костного мозга. Предложенный подход является оптимальным, так как позволяет учитывать индивидуальные особенности каждого пациента. Достоверности полученным результатам и выводам добавляет тот факт, что выявленные у пациентов долгосрочные изменения были подтверждены автором в исследовании стромальных предшественников в костном мозге мышей, получавших терапевтические дозы цитостатических препаратов. Подобные исследования не встречаются в мировой литературе.

Значительная часть исследования посвящена исследованию устройства и регуляции стромального компартмента в здоровом костном мозге человека и мышце. Несколькими независимыми функциональными методами было подтверждено взаимное расположение известных в настоящее время типов стромальных предшественников. Автором впервые было охарактеризовано действие паратиреоидного гормона и гидрокортизона на некоторые типы стромальных предшественников. Влияние паратиреоидного гормона на



кроветворные клетки было описано в мировой литературе ранее, однако, анализ стромальных клеток-предшественниц по чувствительности к данному препарату был выполнен впервые. Влияние гидрокортизона на стромальные предшественники также описано впервые. Результаты, выявившие отличие ответа на гидрокортизон в зависимости от пола донора, кажутся интересными и перспективными. Возможно, необходимо принимать их во внимание при терапии кортикостероидами. Однако, эффект гидрокортизона был охарактеризован только на одном типе предшественников (ММСК), необходимо подтверждение на других типах клеток.

### **Обоснованность используемых методов**

Использованные методы соответствуют поставленным в исследовании задачам и позволяют выполнить их в полной мере. Изучение как систем *in vitro*, так и *in vivo* моделей необходимо для полноценного ответа на поставленные вопросы. Учитывая вариабельность результатов, использованы адекватные для получения достоверных результатов по величине выборки и методы статистической обработки данных.

### **Достоверность результатов и обоснованность выводов**

Полученные в работе выводы достоверны. Проведен тщательный анализ данных литературы по теме диссертации. Эксперименты спланированы детально и сопровождаются всеми необходимыми контролями. Анализируемые группы состоят из большого количества образцов. Методы статистического анализа выбраны адекватно. Наиболее важные заключения подтверждены данными, полученными с применением нескольких экспериментальных подходов.

По итогам работы сформулировано 7 выводов, которые обоснованно следуют из полученных результатов.

**Положения, вынесенные на защиту**, являются весомыми, подтверждены полученными результатами и носят фундаментальный характер.

### **Практическая значимость полученных результатов**

Результаты исследования рекомендуется учитывать при планировании и анализе экспериментальных и клинических исследований, включающих в себя стромальные клетки человека. В связи с тем, что деление здоровых доноров на подгруппы по возрасту было проведено в соответствии с рекомендациями ООН, полученные И. Н. Шипуновой данные стандартизованы и могут быть использованы в любых других отечественных или зарубежных исследованиях. Обнаруженные в разных группах доноров и пациентов изменения стромальных предшественников необходимо учитывать при проведении экспериментов и особенно клинических исследований. Также это важно для прогнозирования возможных последствий применения высокодозной химиотерапии. Подтвержденная иерархическая структура отдела мезенхимных стромальных

клеток обеспечивает всех исследователей, работающих в данной области, необходимыми знаниями о функциях и потенциале каждого исследованного типа предшественников. Это, безусловно, необходимо для грамотного планирования экспериментов и адекватного анализа полученных данных.


### **Структура диссертации**

Диссертационная работа построена по стандартному типу, оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка литературы, списка сокращений и условных обозначений и приложений А, Б и В; содержит 274 страницы текста, 27 таблиц, 49 рисунков и список литературы из 447 источников. Работа написана хорошим литературным языком, отличается ясностью и логичностью изложения. Библиография содержит ссылки на 447 источников, из них 29 отечественных и 418 зарубежных. Незначительные редкие опечатки ни в коей мере не снижают научной и практической значимости работы.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Шипуновой Ирины Николаевны «Иерархическая структура стромального микроокружения кроветворной ткани в норме и при заболеваниях системы крови» – это новое, самостоятельно выполненное, логически законченное научное исследование, которое имеет большое научное и практическое значение для ряда дисциплин. Эта работа расширяет круг научных знаний в области экспериментальной и клинической гематологии, клеточной биологии и регенеративной медицины. Тема диссертации актуальна, результаты имеют существенную новизну, выводы достоверны. По совокупности полученных результатов работа Шипуновой Ирины Николаевны соответствует п.9 «Положения о присуждении ученых степеней №842 от 24 сентября 2013 г.(в ред. Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335). Автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Заместитель генерального директора по научной работе  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор



Масчан М. А.

Подпись д.м.н. М. А. Масчана заверяю

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор



Спиридонова Е. А.  
01.02.2019.