

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.058.05 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 26.12.2022 г. № 13

О присуждении Наместниковой Дарье Дмитриевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертационная работа «Влияние внутриартериального и интрацеребрального введения мезенхимальных стволовых клеток на течение и исход острой фокальной ишемии головного мозга у крыс» по специальностям 3.1.24. Неврология и 3.3.3 Патологическая физиология принята к защите 25.10.2022 г. протокол № 14 диссертационным советом 21.2.058.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (приказ №105/нк от 11.04.2012 г.), адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Соискатель Наместникова Дарья Дмитриевна, 1989 года рождения, в 2012 году окончила с отличием Факультет фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «Лечебное дело».

В период подготовки диссертации являлась очным аспирантом кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный

исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В настоящее время работает ассистентом кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Губский Леонид Васильевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Ярыгин Константин Никитич – член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

Официальные оппоненты:

Екушева Евгения Викторовна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нервных болезней и нейрореабилитации Академии постдипломного образования Федерального государственного бюджетного

учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

Морозов Сергей Георгиевич – член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии» – дали положительные отзывы о диссертации.

Отзывы содержат вопросы, на которые диссертантом даны исчерпывающие ответы.

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (г.Москва), в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором Чмутиным Геннадием Егоровичем – заведующим кафедрой нервных болезней и нейрохирургии имени проф. Ю.С. Мартынова Медицинского Института и доктором медицинских наук, профессором Благодоровым Михаилом Львовичем – заведующим кафедрой общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов», указали, что диссертационная работа Наместниковой Дарьи Дмитриевны на тему «Влияние внутриартериального и интрацеребрального введения мезенхимальных стволовых клеток на течение и исход острой фокальной ишемии головного мозга у крыс», выполненная под руководством под руководством доктора медицинских наук, доцента Губского Леонида Васильевича и член-корреспондента РАН, доктора биологических наук, профессора Ярыгина Константина Никитича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является научно-

квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача по изучению влияния внутриартериального и интрацеребрального введения мезенхимальных стволовых клеток на течение и исход острой фокальной ишемии головного мозга у крыс.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, достоверности и обоснованности положений и выводов, научно-практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, №1690 от 26.09.2022), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а сам автор достоин присуждения искомой степени по специальностям 3.1.24. Неврология и 3.3.3. Патологическая физиология.

По теме диссертации опубликована 31 печатная работа, из которых 4 статьи в рецензируемых изданиях из перечня ВАК, 9 статей в иностранных журналах, индексируемых в библиографической базе данных Scopus, а также 18 тезисов международных конференций.

Публикации посвящены изучению влияния мезенхимальных стволовых клеток на течение экспериментального инфаркта головного мозга у крыс, особенностям распределения и миграции мезенхимальных стволовых клеток в головном мозге, а также методике модификации модели моделирования острой фокальной ишемии головного мозга методом эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии. Разработка дизайна экспериментальных исследований, организация научно-исследовательской работы, поиске и анализе научной литературы, все микрохирургические манипуляции с лабораторными животными, проведение МР-исследований на уровне оператора и подготовке гистологического материала, интерпретация получаемых результатов, анализ и статистическая обработка всех полученных

результатов исследований и написание статей осуществлены лично соискателем. Общий объем публикаций составил 4,3 печатных листов и содержит 86 % авторского вклада. Оригинальность работы, определенная по системе «Антиплагиат», составляет 98, 59 %.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Namestnikova D. MRI evaluation of frequent complications after intra-arterial transplantation of mesenchymal stem cells in rats // Gubskiy I., Chekhonin V., Gubsky L., Yarygin K. et al. // IOP Journal of Physics: Conference Series. - 2017. – Т. 886, №1. – С. 012012. Scopus
2. Namestnikova D. Methodological aspects of MRI of transplanted superparamagnetic iron oxide-labeled mesenchymal stem cells in live rat brain // Gubskiy I., Chekhonin V., Gubsky L., Yarygin K. et al. // PLoS One. – 2017. – Т. 12, № 10. – С. e0186717. Scopus
3. Наместникова Д.Д. Клеточная терапия ишемического инсульта. Типы стволовых клеток и результаты доклинических исследований / Таирова Р.Т., Губский Л.В., Ярыгин К.Н. и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2018. – Т. 118, № 9-2. – С. 69-75.
4. Наместникова Д.Д. Клеточная терапия ишемического инсульта. Результаты клинических исследований и перспективы применения в Российской Федерации // Таирова Р.Т., Губский Л.В., Ярыгин К.Н. и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски – 2018. – Т. 118, № 12-2. – С. 94-104.
5. Namestnikova D. MRI Guiding of the Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats Aimed to Improve Stroke Modeling // Namestnikova D.D., Chekhonin V.P., Gubsky L.V., Yarygin K.N. et al. // Translational Stroke Research. – 2018. – Т. 9, № 4. – С. 417-425. Scopus
6. Наместникова Д.Д. Распределение и миграция мезенхимных стромальных клеток плаценты человека в головном мозге здоровых крыс после стереотаксической или внутриартериальной трансплантации // Наместникова Д.Д., Губский И.Л., Чехонин В.П., Губский Л.В., Ярыгин

- К.Н. и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. - 2019 – № 4 – С. 227-237
7. Namestnikova D. // Distribution and Migration of Human Placental Mesenchymal Stromal Cells in the Brain of Healthy Rats after Stereotaxic or Intra-Arterial Transplantation // Namestnikova D.D., Chekhonin V. P., Gubskii L. V., Yarygin K. N. et al. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2020.- Т. 168, № 4. – С.542–551. Scopus
  8. Namestnikova D.D. Combined Cell Therapy in the Treatment of Neurological Disorders // Gubsky L.V., Majouga A.G., Yarygin K. N. et al. // Biomedicines. – 2020. - Т.8, № 12. – С. 8120613. Scopus
  9. Namestnikova D.D. Intra-Arterial Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke in Rats: Real-Time MR Visualization of Transplanted Cells Starting With Their First Pass Through the Brain With Regard to the Therapeutic Action // Gubsky L.V., Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Yarygin K.N. et al. // Frontiers in Neuroscience. – 2021. - Т.2, № 15.- С. 641970. Scopus
  10. Namestnikova D.D. Cell Therapy of Stroke: Do the Intra-Arterially Transplanted Mesenchymal Stem Cells Cross the Blood–Brain Barrier? // Namestnikova D.D., Sukhinich K.K., Gubskiy I.L. et al. // Cells. – 2021. - Т. 10, № 11.- С. 2997. Scopus
  11. Наместникова Д.Д. Построение 3d-модели распределения внутриартериально трансплантированных клеток в головном мозге крысы по данным мрт, верифицированным гистологическим исследованием // Наместникова Д.Д., Губский Л.В. Чехонин В.П., Ярыгин К.Н. и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2021 - № 2 – С. 90-96.
  12. Namestnikova D.D. MRI-Based and Histologically Verified 3D Modeling of Spatial Distribution of Intra-Arterially Transplanted Cells in Rat Brain // Namestnikova D.D., Gubsky L.V., Chekhonin V.P., Yarygin K.N. et al. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021.- Т. 171, № 2.– С. 517–522. Scopus

13. Namestnikova D.D. The Impact of Cerebral Perfusion on Mesenchymal Stem Cells Distribution after Intra-Arterial Transplantation: A Quantitative MR Study // Namestnikova D.D., Chekhonin V.P., Gubsky L.V., Yarygin K.N. et al. // Biomedicines. – 2022. - Т.10, № 2.- С. 353. Scopus

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Каленовой Ирины Евгеньевны – доктора медицинских наук, доцента, доцента кафедры неврологии Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации;

Щёголева Александра Ивановича – доктора медицинских наук, профессора, заведующий 2-м патологоанатомическим отделением Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Романова Юрия Аскольдовича – кандидата медицинских наук, доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника лаборатории ангиогенеза научно-исследовательского института экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Отзывы на автореферат содержат высокую оценку актуальности представленного исследования, научной новизны и практической значимости полученных результатов. Отмечается, что диссертационная работа выполнена на высоком квалификационном научном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор медицинских наук, доцент Екушева Евгения Викторовна и член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор Морозов Сергей Георгиевич - являются ведущими специалистами в области в области неврологии и патологической физиологии, известные своими работами по тематике, представленной к защите диссертации.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации известно своими исследованиями и публикациями близкими по теме диссертации, способно оценить научную новизну и практическую значимость полученных результатов данной диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработан метод интраоперационного магнитно-резонансного контроля внутрисосудистого положения филамента во время проведения операции по эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии, использование которого позволяет значимо повысить эффективность моделирования экспериментальной острой фокальной ишемии головного мозга благодаря уменьшению частоты возникновения геморрагических осложнений и увеличению процента моделирования инфарктов мозга полушарного типа:

- доказана терапевтическая эффективность и безопасность как внутриартериальной (в дозировке  $5 \times 10^5$ ), так и интрацеребральной (в дозировке  $3 \times 10^5$ ) трансплантации мезенхимальных стволовых клеток у крыс с моделью острой фокальной ишемии. Продемонстрировано улучшение выживаемости лабораторных животных, степени выраженность неврологического дефицита и значимое улучшение функции передних конечностей;

- доказано более выраженное и быстрое положительное терапевтическое действие внутриартериальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на течение острой фокальной ишемии головного мозга у крыс по сравнению с их интрацеребральным введением;

- продемонстрирован сходный характер распределения и миграции в головном мозге мезенхимальных стволовых клеток после их интрацеребрального введения крысам с моделью острой фокальной ишемии, а также интактным животным: МСК мигрируют вдоль мозолистого тела в латеральном и медиальном направлениях в пределах полушария введения, а также периваскулярно;

- продемонстрирован характер распределения и миграции в головном мозге мезенхимальных стволовых клеток после их внутриартериального введения крысам с моделью острой фокальной ишемии, а также интактным животным. Выявлены общие черты: трансплантированные клетки распределялись преимущественно в ипсилатеральном полушарии, в стволовых структурах внутри церебральных сосудов, а единичные клетки детектировались в противоположном полушарии. При этом также установлено, что у животных с моделью острой фокальной ишемии наибольшее число клеток визуализировалось в периинфарктной области и в очаге инфаркта мозга. Продемонстрировано кратковременное нахождение трансплантированных клеток в головном мозге внутри церебральных сосудов в тесном контакте с их внутренней стенкой после внутриартериальной трансплантации: до 48 часов у интактных животных и до 72 часов у крыс с моделью острой фокальной ишемии.

- выявлены механизмы, обеспечивающие неравномерное распределение трансплантированных мезенхимальных стволовых клеток в головном мозге после их внутриартериального введения крысам с моделью острой фокальной ишемии головного мозга. Доказаны значимый вклад церебральная перфузия (до 28-30%) в плотность распределение трансплантированных клеток в головном мозге. Продемонстрировано, что в зоне инфаркта мозга и

периинфарктной области (в местах наибольшего скопления МСК после внутриартериального введения) через 24 часа после моделирования острой фокальной ишемии значимо повышена экспрессия генов молекул клеточной адгезии ICAM-1 и PECAM-1 по сравнению со таковым в анатомически сходных участках в противоположном полушарии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- усовершенствованная в ходе исследования методика моделирования острой фокальной ишемии головного мозга у крыс методом эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии путем МРТ-контроля положения филамента позволит повысить эффективность моделирования инфаркта мозга в доклинических исследованиях и внесет вклад в развитие экспериментальной неврологии и патологической физиологии;

- полученные в ходе исследования результаты также внесут вклад в понимание фундаментальных механизмов действия, миграции и хоуминга МСК и могут быть использованы при разработке биомедицинских клеточных технологий лечения инсульта и подготовке к клиническим испытаниям.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России и рассматриваются в тематике лекций и семинаров в рамках дисциплины «современные клеточные технологии в биологии и медицине» для студентов 4 курса медико-биологического и международного факультетов, студентов 6 курса медико-биологического факультета;

- результаты диссертационного исследования, а именно разработанный метод интраоперационного магнитно-резонансного контроля моделирования острой фокальной ишемии головного мозга у лабораторных грызунов методом эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии, методики внутриартериальной и интрацеребральной трансплантации стволовых клеток

лабораторным грызунам, а также способ прижизненной магнитно-резонансной визуализации стволовых клеток в режиме реального времени после их внутриартериального введения, используются в научной работе в центре коллективного пользования «Медицинские и биотехнологические нанотехнологии» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, а также в научной работе отдела ультразвуковой и функциональной диагностики ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства России.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- степень достоверности результатов диссертационной работы и выводов основывается на достаточных по объему экспериментальных данных (в исследование включено 238 лабораторных крыс Вистар) и применении современных методов исследования, которые полностью соответствуют поставленным задачам;

- использованы современные методики сбора и обработки информации, в том числе статистической обработки данных, с использованием программ «Microsoft Office 2019», «IBM SPSS Statistics V 23.0», выполненной согласно современным требованиям медико-биологической статистики.

Личный вклад соискателя состоит в разработке дизайна и организации научно-исследовательской работы, поиске и анализе научной литературы по теме диссертации, автором самостоятельно выполнялись всех микрохирургические манипуляции с лабораторными животными, автор принимал активное участие в проведении МР-исследований на уровне оператора и подготовке гистологического материала, а также принимал непосредственное участие в интерпретации получаемых результатов нейровизуализации и гистологического исследования, в анализе, статистической обработке и оформлении всех полученных результатов исследования, подготовке научных статей, докладов и написании текста диссертации.

Результаты работы представлены на российских и международных конференциях: II национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, Российская Федерация, декабрь 2015 года); XI Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Российская Федерация, май-июнь 2015 года); 32 ежегодный съезд European Society of Magnetic Resonance in Medicine and Biology (Эдинбург, Великобритания, октябрь 2015); XII Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Российская Федерация, май-июнь 2016 года); 10th World Stroke Congress (Хайдарабад, Индия, октябрь 2016 года); 3rd European Stroke Organization Congress (Прага, Чехия, май 2017 года); III национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, Российская Федерация, ноябрь 2017 года) 4th European Stroke Organization Congress (Гетенбург, Швеция, май 2018 года); 11th World Stroke Congress (Монреаль, Канада, октябрь 2018 года); XI Всероссийский съезд неврологов и IV конгресс Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (Санкт-Петербург, Российская Федерация, июнь 2019 года); VI национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, Российская Федерация, ноябрь 2019 года); XVI Международный междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Российская Федерация, октябрь 2020 года); XVII Международный междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Российская Федерация, май-июнь 2021 года); 13th World Stroke Congress (проводился дистанционно, октябрь 2021 года); XVIII Международный междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Российская Федерация, май-июнь 2022 года).

Диссертационная работа Наместниковой Дарьи Дмитриевны полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №723 от 30.07.2014 г., №335 от 21.04.2016 г., №748 от

02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., №426 от 20.03.2021, №1539 от 11.09.2021г., №1690 от 26.09.2022), в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 26 декабря 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Наместниковой Дарьи Дмитриевне ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 24 человек, из них 17 докторов наук по специальности 3.1.24. Неврология, 3 докторов наук по специальности 33.3.3 Патологическая физиология, участвовавших в заседании, из 29 человек входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 доктора наук по специальности 33.3.3 Патологическая физиология: за присуждение ученой степени - 24, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор  
член.-корр. РАН

Мартынов Михаил Юрьевич

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор



Боголепова Анна Николаевна  
26.12.2022 г.