

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Валетдиновой Камилы Робертовны на тему: «Получение модельной системы спинальной мышечной атрофии на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 (генетика)

Диссертационная работа Валетдиновой К.Р. является экспериментальным исследованием, в котором решена задача фундаментальной важности в современной медицинской науке – создание и характеристика пациент-специфичной системы для клеточного моделирования спинальной мышечной атрофии (СМА).

Спинальная мышечная атрофия является тяжелым неизлечимым неврологическим заболеванием, поэтому исследование механизмов ее развития и – в перспективе – способов коррекции с помощью методов генной терапии является важной задачей в этой отрасли науки. При этом в настоящее время отсутствуют адекватные модели *in vitro*, позволяющие изучать эффективность лекарственных средств и клеточные патогенетические факторы. Кроме того, важным является и создание пациент-специфичных клеточных моделей, так как СМА является полиморфным заболеванием с различным течением, определяемым генетическими факторами, в т.ч. копийностью гена *SMN2* и различными мутациями в гене *SMN1*.

Автором работы для создания модельной системы использован современный подход генерации индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (ИПСК), получающий в последние годы широкое распространение для получения клеточных моделей заболеваний человека (т.н. *disease in a dish*). Представленные данные с использованием первичных фибробластов от здоровых доноров и больных СМА I и II типов указывают на успешное перепрограммирование их в ИПСК с помощью эписомных векторных конструкций. Эффективность перепрограммирования составляла 0,1%, что является достаточно высоким показателем при использовании невирусного метода доставки и позволило получить достаточное количество ИПСК.

Полученные автором результаты тестов на плюрипотентность убедительно свидетельствуют об успешном получении промежуточной модельной культуры, которая затем была использована для получения целевой культуры моторных нейронов. В ходе характеристики ИПСК получены данные, подтверждающие как их дифференцировку в клетки 3-х зародышевых листков, так и проведены тесты *in vivo*, показавшие тератогенные потенциал, говорящий об истинно плюрипотентном состоянии полученных клеток. Более того, в культурах ИПСК сохранились признаки генетических aberrаций, связываемых с развитием СМА I и II типа, которых не отмечалось в клетках, полученных из фибробластов здорового человека.

Полученные путем направленной дифференцировки моторные нейроны, как было показано автором, имели все гистологические и морфологические признаки, характерные для данного типа клеток. В частности, подтверждена экспрессия транскрипционных факторов, отвечающих за ранние (*SOX1*, *PAX6*), а также более поздние стадии нейрональной дифференцировки (*OLIG2*), которые затем сменялись появлением экспрессии гена *CHAT* и его основного продукта – ацетилхолинэстеразы. Что важно, на стадии зрелых моторных нейронов, полученных из ИПСК от пациента со СМА I типа, была отмечена сниженная (по сравнению со здоровыми донорами) жизнеспособность

данного типа клеток, т.е. сохранялся фенотип, встречающийся при данном заболевании. Таким образом, автором была корректно и в полном объеме решена поставленная в работе задача, а использованные им подходы позволили всесторонне охарактеризовать полученную уникальную клеточную модель тяжелого заболевания человека – СМА I и II типов.

Экспериментальные и статистические методы, использованные автором в работе, являются современными и вкпе с корректной интерпретацией позволили сделать логичные и закономерные выводы, подкрепленные полученными данными. Обзор литературы, описание методов и подробный характер изложения результатов исследования позволяют объективно трактовать изложенные в работе положения. При обсуждении результатов в соответствующем разделе диссертации автором приведены данные других групп и исследователей и обсуждены некоторые находки (в частности, появление в культуре IRX3+/NGN3+ нейронов-предшественников другого типа). Принципиальных замечаний по самой работе и ее оформлению нет.

Диссертационная работа Валетдиновой К.Р. содержит решение актуальной задачи медицинской науки, выполнена в соответствии с существующими в этой области стандартами и требованиями. По результатам диссертации Валетдиновой К.Р. в соавторстве опубликованы статьи в научных журналах, входящих в перечень ВАК РФ, работа была успешно доложена на конференциях и в рамках апробации по месту выполнения

Диссертационная работа Валетдиновой К.Р. «Получение модельной системы спинальной мышечной атрофии на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», отвечает всем требованиям 9 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к такого рода исследованиям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

Макаревич Павел Игоревич, к.м.н.

С.н.с. Лаб. Генно-клеточной терапии  
Института Регенеративной Медицины  
МГУ имени М.В. Ломоносова  
Ломоносовский пр-т, 27, к.10.  
119192, Москва  
email: [pmaakarevich@mc.msu.ru](mailto:pmaakarevich@mc.msu.ru)  
Тел/факс: +7 495 531 2777 (доб. 4104)

Подпись \_\_\_\_\_

*Подпись Макаревича П.И.  
удостоверено*

«18» ноября 2016 г.

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА КАДРОВ



*bx 2171/81  
22.11.2016 г.*