

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Чепелевой Елены Васильевны «Характеристика регенеративного потенциала кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 - «клеточная биология»

Актуальность темы диссертации

В настоящее время большие перспективы в коррекции постинфарктных изменений в сердечной ткани связывают с прогрессом в области клеточных технологий. Этому способствуют современные наработки в области молекулярных и клеточных технологий, позволяющих использовать клеточную терапию для минимизации зоны хронической ишемии миокарда и максимального сокращения величины очагов постинфарктного повреждения. Поэтому исследования, направленные на улучшение как функциональных показателей работы сердца в целом, так и качества кардиомиоцитов в страдающем миокарде актуальны и находятся в эпицентре современной клеточной биологии. Возможность трансплантации гетерогенных популяций клеток взрослого организма в начальных клинических испытаниях определила ряд актуальных задач перед исследователями для реализации данного направления. В диссертации Е.В. Чепелевой исследован регенеративный потенциал кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в условиях *in vitro* и *in vivo*. В контексте сформулированной в работе цели, проведена иммунофенотипическая характеристика полученных из фрагментов предсердия человека и крысы кардиальных стромальных клеток с оценкой их ангиогенного потенциала, влияния интрамиокардиальной трансплантации кардиальных стромальных клеток на функциональные и морфологические характеристики сердца на модели постинфарктного кардиосклероза у крыс линии WAG, а на модели острого инфаркта миокарда у крыс линии WAG

количественно оценена выживаемость кардиальных стромальных клеток, трансплантированных в перинфарктную зону. Важной составляющей диссертации являются и предпринятые экспериментальные подходы к разработке оптимальной технологии формирования функциональной ткани сердца, способной к генерации ритмической активности и синхронным сокращениям, из полученных *in vitro* клеток.

Диссертационное исследование Е.В. Чепелевой является значимым, актуальным и перспективным, полностью располагается в русле современных тенденций развития клеточной биологии.

Новизна проведённых исследований и полученных результатов

Автором разработан метод обогащения гетерогенных культур клеток, полученных из предсердий, с-kit позитивными клетками сердца. Создана люциферазная репортерная система для количественного определения выживаемости клеток в организме реципиента. Предложен и отработан протокол интрамиокардиальной трансплантации люминесцентной клеточной культуры в перинфарктную область миокарда. Впервые показано, что трансплантированные с целью созревания под фиброзную капсулу почки мышей SCID клеточные пласты кардиомиоцитов, полученных из ИПСК человека, сохраняют функциональную активность и после эксплантации из организма способны к согласованному сокращению и осцилляции потоков ионов кальция.

Разработанные автором протоколы по получению и культивированию клеточных субпопуляций, а также способ их мечения люциферазной репортерной системой открывают новые экспериментальные возможности для разработки клеточной терапии в исследовании ряда патологических состояний.

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

Обоснованность основных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, обусловлена высоким

методическим уровнем исследования с использованием классических и современных молекулярных, клеточных и морфологических методов исследования. Научные выводы объективны, подробно аргументированы, логически осмысленны, соответствуют поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, обобщают важные достижения диссертационной работы Е.В. Чепелевой и демонстрируют, что кардиальные стромальные клетки представляют собой гетерогенную популяцию, обладающую ангиогенным потенциалом, и могут способствовать ремоделированию левого желудочка после интрамиокардиальной трансплантации крысам линии WAG на стадии развития хронического кардиосклероза. Кроме того, трансплантация кардиомиоцитов, полученных из ИПСК человека, в составе клеточных пластов, позволяет сохранить функциональную активность и способность к согласованному сокращению в условиях живого организма, а также способствует созреванию клеток.

Как следует из диссертации, Е.В. Чепелева принимала непосредственное участие в проведении всех экспериментальных работ и обработке полученных результатов. Осуществила статистическую обработку полученных данных, проанализировала отечественную и зарубежную литературу, подготовила и написала все разделы диссертационной работы.

Уровень проектирования экспериментов и анализа результатов, а также высокий уровень заявленного экспериментального подхода подтверждают то, что в диссертации Е.В. Чепелевой представлены достоверные и обоснованные результаты и выводы. Основные результаты работы подробно изложены в 12 публикациях: из них 8 статей в рецензируемых российских научных журналах, в том числе 5 статей в журналах, входящих в международные базы цитирования (WoS, Scopus), и 4 публикации в сборниках тезисов докладов российских научных конференций с международным участием.

Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость полученных результатов диссертационного исследования для фундаментальной науки (клеточная биология, молекулярная биология,

патологическая физиология) определяется тем, что автором: 1) выявлен регенеративный потенциал кардиальных стромальных клеток за счет паракринной активности; 2) осуществлена комплексная оценка фенотипических признаков различных типов кардиомиоцитов (атриальных, вентрикулярных и проводящих) клеток, полученных при кардиальной дифференцировке индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека.

Значимость результатов диссертационного исследования для практической деятельности в области кардиологии определяется возможностью их использования при разработке технологий заместительной клеточной терапии ишемической болезни сердца.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная рукопись написана в академическом стиле, изложена на 172 страницах машинописного текста, состоит из обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, заключения, списка литературы, состоящего из 278 источников, преимущественно из зарубежных журналов, значительная часть которых опубликована в течение последних 5-7 лет. Диссертация содержит 6 таблиц и 46 рисунков. Иллюстрации точно и наглядно отражают полученные автором результаты. Список литературы содержит 278 источников, из них 18 – публикации отечественных авторов, 260 – зарубежных исследователей.

Во введении автором представлены основные положения, касающиеся актуальности, цели и задач выполнения работы, ее научной новизны и практической значимости, дана информация о степени апробации полученных результатов и личном вкладе соискателя в работу.

Обзор литературы отражает современное состояние проблематики по данной теме. Автор анализирует имеющиеся данные в области экспериментальной заместительной клеточной терапии, результаты клинических испытаний применения клеточных методов для лечения последствий тяжелых ишемических повреждений миокарда.

В главе «Материалы и методы» автор детально описывает использованные в работе методы, а также молекулярно-генетические, клеточно-биологические протоколы, методы визуализации и статистического анализа полученных данных.

В главе «Результаты и обсуждение» автором изложены результаты диссертационного исследования, имеются и подглавы, которые соответствуют решенным экспериментальным задачам всех этапов исследования с обсуждением собственных и соответствующих литературных данных.

В заключении автор обобщает, анализирует и сравнивает полученные результаты. Завершают диссертацию развернутые и конкретизированные выводы, соответствующие поставленной цели и задачам исследования.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с общепринятыми требованиями, соответствует ее содержанию и дает полное представление об основных положениях работы.

Замечания

В описании статистической обработки данных указано, что межгрупповые сравнения проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Однако большинство результатов представлено множественными сравнениями, когда сравнивают более двух групп. В этих случаях следует либо применять методы дисперсионного анализа с post hoc попарными сравнениями, либо вводить поправку Бонферрони.

В главе «Результаты и обсуждение» зачастую особняком приведены данные литературы, больше соответствующие разделу «Обзор литературы», а также детализация методов исследования, которая больше соответствует разделу «Материалы и методы».

Вопросы

1) В работе сделано предположение, что клеточные культуры могут оказывать регенеративный эффект при трансплантации в ишемизированный миокард за счет секреции цитокинов и ростовых факторов, а также стимуляции терапевтического ангиогенеза в зоне повреждения. В настоящее

время большое внимание исследователей во всем мире привлекают микропузырьки (в частности, их подвид — экзосомы), которые играют важную роль в межклеточном сигналинге и могут, по современным представлениям, как провоцировать или ухудшать течение заболеваний (например, нейродегенеративных), так и наоборот, способствовать излечению и регенерации. В диссертации эта тема практически не затронута. Что диссертант может сказать о роли экзосом при трансплантации и возможностям их применении в технологиях клеточной регенерации?

2) Каков, по мнению автора, оптимальный состав по типу клеток для трансплантации, который может быть использован при клеточной терапии заболеваний сердца?

3) Какие, проблемы в применении кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека остаются актуальными и в настоящее время, какие пути их решения автор считает наиболее перспективными?

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Отмеченные выше вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют приятного впечатления от этой обширной работы.

Заключение

Диссертация Чепелевой Елены Васильевны «Характеристика регенеративного потенциала кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой и соответствует паспорту специальности 1.5.22 - «клеточная биология». По новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертация полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля

2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168 и от 20 марта 2021 г. №426), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор — Чепелева Елена Васильевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 - «клеточная биология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
главный научный сотрудник, заведующий
лабораторией трансляционной биопсихиатрии
и отделом экспериментальной нейронауки,
заместитель директора по научной работе ФБГНУ
«Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины»

Амстиславская Тамара Геннадьевна

14.09.2022

Контактные данные:

тел.: 7(913)7712785, e-mail: amstislavskayatg@neuronm.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

(03.00.13. – физиология, биологические науки)

Адрес места работы:

630117, Российская Федерация, Новосибирская область, г. Новосибирск,
ул. Тимакова, д. 4,

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины”

Тел.: 8(383) 373-01-85; e-mail: amstislavskayatg@neuronm.ru

Подпись д.б.н. Амстиславской Т.Г. подтверждаю:
начальник отдела кадров НИИНМ



М.К. Батина