

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2  
Тел/факс +7 (812) 702-37-30  
e-mail: fmrc@almazovcentre.ru  
ОГРН 1037804031011 ИНН 7802030429 КПП 781401001

06.10.2022 № 02-05-10357/22

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

## УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора  
по научной работе Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения «Национальный  
медицинский исследовательский  
центр имени В.А. Алмазова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации доктор  
медицинских наук, профессор  
академик РАН



А.О. Конради

2022г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертации Чепелевой Елены Васильевны на тему: «Характеристика регенеративного потенциала кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### Актуальность темы исследования

Рост количества сердечно-сосудистых заболеваний и увеличение численности пациентов с острыми ишемическими состояниями и хронической сердечной недостаточностью диктует необходимость создания новых перспективных терапевтических подходов в дополнение к имеющимся современным стандартам терапии и хирургическим методам исследования. Одним из таких подходов, безусловно, может являться клеточная и регенеративная терапия с использованием потенциала прогениторных

клеток. Несмотря на множественные исследования по изучению терапевтического потенциала прогениторных клеток при сердечно-сосудистой патологии, остается множество не решенных фундаментальных вопросов относительно типа используемых клеток, их оптимального маркерного и экспрессионного состава, функциональной активности, дифференцировочного потенциала и выживаемости в условиях *in vivo* и *in vitro*. Помимо этого, не решенными остаются вопросы о выживаемости прогениторных клеток после трансплантации, сроках оказываемых ими эффектов, возможностью длительного их функционирования в условиях живого организма. Появление возможности получения относительно зрелых кардиомиоцитов путем направленной дифференцировки индуцированных плюрипотентных клеток расширило потенциальные возможности клеточной терапии при заболеваниях миокарда. Однако, вопросы тканевой интеграции трансплантированных клеток, безопасности их применения, сохранения полноценных функциональных свойств с поддержанием эффективной саркомерной структуры, ионного гомеостаза и кальциевого сигналинга, свойственного терминально дифференцированным сократительным клеткам не решены в экспериментальных работах, не смотря на огромное количество проводимых в этой области исследований. В конечном счете применение индуцированных плюрипотентных клеток в кардиологии с целью восстановления регенерации не нашло достаточных экспериментальных подтверждений и диктует необходимость поиска новых фундаментальных подходов.

С позиции наиболее обоснованных экспериментальных исследований с положительным результатом в настоящий момент стромальные мезенхимные клетки являются наиболее перспективным объектом в клеточной терапии заболеваний миокарда. Исследования данного типа клеток являются сейчас многообещающими и с учетом их мощного паракринного и секреторного эффекта. Данные исследования сфокусированы, в основном, на изучении временных сроков описываемых эффектах, потенциальном ангиогенном

эффекте клеток, их антиапоптотической активности и способности восстанавливать профиль тканевого микроокружения. Большое количество перечисленных аспектов освещены в диссертации Чепелевой Елены Васильевны, что делает выполненное диссертационное исследование востребованным как для фундаментальной биомедицинской науки, так и для прикладных научно-клинических исследований.

Вышеуказанные тезисы свидетельствуют о высокой актуальности темы диссертационного исследования Е. В. Чепелевой, в котором анализируется потенциальная возможность применения различных типов прогениторных клеток (стромальных мезенхимных клеток сердца крысы и человека и индуцированных плюрипотентных клеток человека) при острых и хронических повреждениях миокарда ишемического генеза. Освященные в работе вопросы сохранения жизнеспособности клеток и повышения их функциональной активности за счет включения в полимерные структуры и формирования клеточных пластов также крайне актуальны и несут важную фундаментальную и экспериментальную информацию.

#### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Полученные автором диссертации результаты обладают абсолютной научной новизной в отношении как клеточно-молекулярных, так и экспериментально-клинических аспектов применения стволовых клеток в кардиологии. Так, впервые доказана роль клеточного микроокружения и формирования клеточных пластов в выживаемости клеток после трансплантации, показан характер экспрессионного профиля клеток в отношении факторов ангиогенеза и возможность его сохранения за счет формирования кардиосфер. Впервые проведено сопоставление экспрессионного профиля проангиогенных генов в стромальных клетках миокарда крысы и человека, показана схожесть функционального проангиогенного потенциала и возможность его усиления. Также впервые

детально охарактеризована гетерогенность популяции стромальных клеток и возможности усиления ангиогенного потенциала данной популяции. В дополнение, наглядно продемонстрирован паракринный механизм положительного влияния введенных клеток и наглядно доказаны ограниченные сроки выживания введенных клеток в ткань миокарда. Наряду с экспериментальными данными в отношении трансплантации стромальных мезенхимных клеток сердца автором впервые напрямую показана малая эффективность сохранения функциональных свойств кардиогенно-дифференцированных индуцированных плюрипотентных клеток в структуре матригеля при подкожной трансплантации и, напротив, увеличение сохранения функциональных свойств клеток при использовании клеточных пластов субкапсулярно в область почки.

#### **Обоснованность и достоверность научных положений и выводов**

Достоверность результатов, представленных в работе, основана на достаточном экспериментальном материале с использованием достаточного количества экспериментальных животных и применении оптимально подобранных контрольных групп. Для реализации поставленных задач были использованы наиболее современные методы клеточного культивирования, оценки экспрессии отдельных генов, функциональной активности кардиомиоцитов и оценки ангиогенного потенциала, а также комплексные методы оценки электрофизиологических свойств кардиогенно-дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток. Обоснованность результатов данной диссертационной работы определяется четко сформулированной целью и задачами, а также адекватным использованием всех экспериментальных и лабораторных подходов и статистических методов анализа результатов. Все научные положения, выносимые на защиту в полной мере подтверждены результатами исследований, продемонстрированными в виде рисунков и таблиц. Выводы и сформулированные практические рекомендации отражают основное

содержание представляемой работы, доказаны, научно обоснованы и аргументированы и вытекают из полученных экспериментальных данных.

### **Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации**

Полученные автором результаты имеют большое фундаментальное значение в области клеточной биологии и регенеративной медицины, поскольку позволяют сделать выводы об оптимальных типах используемых клеток, механизмах и репаративного воздействия и путях совершенствования их терапевтического потенциала. Продемонстрированная в работе зависимость результатов применения стромальных клеток миокарда от предварительных условий их культивирования и, в частности, значимость пребывания клеток в бессывороточной среде для более длительного сохранения антиишемических и парактинных свойств при проведении трансплантации клеток.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы в практике для увеличения эффективности клеточной терапии при ишемическом повреждении миокарда. Данные о возможности модификации ангиогенного потенциала стромальных клеток сердца могут быть использованы при создании генотерапевтических препаратов с использованием генов, вовлеченных в ангиогенез. Данные о значимо большем потенциале выживаемости клеток при их использовании в формате клеточных пластов могут быть применены при разработке местных подходов в регенеративной медицине.

### **Общая оценка диссертационной работы**

Работа Чепелевой Е. В. представляет большой интерес для молекулярной и клеточной биологии, кардиологии, регенеративной медицины и других областей биомедицинских исследований. В работе

использованы современные лабораторные методы, методы клеточного культивирования и функциональной оценки. Экспериментальные работы, проведенные на достаточном количестве животных, выполнены с соблюдением всех необходимых этических требований. Поставленные в исследовании задачи успешно решены благодаря оптимальному дизайну клеточных работ и работ с экспериментальными животными. Диссертационное исследование изложено на 172 страницах и написано по традиционному плану. Оно состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения полученных данных. Диссертация проиллюстрирована 46 рисунками и 6 таблицами, информация изложена лаконично и содержательно. Результаты работы полноценно освещены в восьми публикациях журналов из списка ВАК, содержание автореферата соответствует содержанию диссертации и в полной мере отражает полученные результаты.

### **Заключение**

Диссертация Чепелевой Е.В. «Характеристика регенеративного потенциала кардиальных стромальных клеток и кардиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи – поиска оптимального клеточного источника и совершенствование путей сохранения функциональной активности трансплантированных прогениторных клеток, имеющей значение для клеточной биологии и фундаментальной биомедицины. Работа соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в актуальной редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Чепелева Елена Васильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв на диссертацию Чепелевой Елены Васильевны обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии «Клеточная и молекулярная биология, генетика» Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 3 от 31 августа 2022 г.

Костарева Анна Александровна,  
доктор медицинских наук  
(3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика),  
директор Института молекулярной биологии и  
генетики, профессор кафедры факультетской  
терапии Института медицинского образования  
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»  
Минздрава России

Малашичева Анна Борисовна,  
доктор биологических наук  
(1.5.22. Клеточная биология),  
руководитель группы молекулярных  
механизмов кальцификации Центра неизвестных,  
редких и генетически-обусловленных  
заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной  
медицины»

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Адрес: 197341, г. Санкт-Петербург, улица Аккуратова, д. 2  
Телефон: +7 (812) 702-68-16; +7 (812) 702-37-00.  
e-mail: fmrs@almazovcentre.ru  
Web-сайт: www.almazovcentre.ru

Подписи доктора медицинских наук, Костаревой Анны Александровны, доктора биологических наук, Малашичевой Анны Борисовны заверяю:

Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»  
Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор



А.О. Недошивин