

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Примак Александры Леонидовны
на тему: «Создание культуры иммортализованных мультипотентных
мезенхимных стромальных клеток человека для задач регенеративной
биомедицины»
по специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия**

Общая характеристика работы и актуальность избранной темы

Представленная к защите диссертация А.Л. Примак является научным исследованием, посвященным важной и актуальной теме, обладающей теоретической и практической значимостью. Диссертационная работа выполнена качественно, написана очень грамотно с минимальным числом технических погрешностей, сочетает в себе важные составляющие, свидетельствующие о глубоком ответственном подходе А.Л. Примак к исследованию - информационно насыщенный литературный обзор, обширный экспериментальный материал и качественный критический анализ. Исследование посвящено актуальной проблеме современной регенеративной биомедицины – изучению границ применения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека, сверхэкспрессирующих кДНК каталитической субъединицы теломеразы, для различных задач регенеративной биомедицины. Актуальность исследования определяется несколькими факторами: 1) выбранный объект исследования действительно является одним из ключевых и используется в широчайшем спектре исследований в области регенеративной биомедицины, 2) для любой задачи с применением клеточных технологий требуются культуры, которые могут быть длительно пассированы, но до сих пор нет единого принятого стандартного подхода для получения таких культур; работа с первичными культурами подчас невозможна из-за их слишком быстрого старения, 3) существующие данные о влиянии различных генно-инженерных подходов на свойства получаемых

клеточных культур подчас значительно разнятся, 4) что самое важное – к настоящему времени также нет признанного подхода как для масштабирования объемов, так и для стандартизации состава секретома МСК, который обладает доказанной во многих исследованиях терапевтической активностью и рассматривается как одна из наиболее перспективных альтернатив клеточной терапии. Без решения этих проблем создание реальных доступных на рынке терапевтических препаратов на основе секретома невозможно.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором диссертационного исследования проведен обширный комплексный экспериментальный анализ влияния сверхэкспрессии кДНК каталитической субъединицы теломеразы на свойства получаемых МСК жировой ткани человека, который в достаточной степени обосновывает положения, выносимые на защиту, научные выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации. Исследование логично разделено на изучение влияния сверхэкспрессии кДНК каталитической субъединицы теломеразы на свойства самих клеточных культур и на свойства получаемого на их основе секретома. Для анализа свойств клеточных культур выбраны признанные методы – как необходимые и достаточные для определения клеток как МСК, так и более интересные дополнительные, которые важны для обоснования функциональной сохранности свойств МСК как ключевых участников регенеративных процессов – способность отвечать на гормональные стимулы, а также важный параметр для создания клеточных моделей – кариотипический анализ. Особенно важно, что в исследовании также впервые проведен подробный анализ свойств секретома культур МСК, сверхэкспрессирующих теломеразу. Автором были корректно выбраны для

анализа первостепенные ключевые параметры секретома, которые являются показательными для обоснования возможности транслировать в дальнейшем такой способ его получения в реальную клиническую практику – сохранность состава по сравнению с составом секретома первичных клеточных культур и при длительном культивировании клеток-продуцентов, сохранность биологической активности, ключевые данные о потенциальной безопасности – отсутствие трансформирующей активности.

Автором проведен глубокий критический анализ полученных результатов с привлечением анализа большого количества современных литературных источников, что дополнительно улучшает качество положений, выводов и рекомендаций диссертации.

Достоверность и новизна выводов и рекомендаций

Достоверность выводов и рекомендаций обусловлена результатами, полученными с использованием современных общепризнанных методов исследования, их грамотной критической интерпретацией и применением адекватных методов статистической обработки данных. Полученные абсолютно новые данные о влиянии сверхэкспрессии теломеразы на гормональную чувствительность и свойства секретома МСК жировой ткани человека носят очевидную теоретическую и большую практическую значимость.

Замечания к диссертационной работе

При общей высокой оценке диссертационной работы А.Л. Примака отмечу следующие незначительные замечания и вопросы:

1. Литобзор очень информационно насыщенный. Весьма грамотно использованы таблицы для акцентирования внимания. Однако, стоило также сделать результирующую таблицу по старению.

2. В целом, в работе мало простора для технических придирок. Тем не менее, в работе часто используется термин «культура МСК». На мой взгляд, это неудачно, поскольку все манипуляции были проведены с самими клетками. В каком-то смысле на латыни это звучит корректнее - "*in vitro*". Пример из текста диссертации: «Контролем успешности селекции служила культивируемая первичная культура МСК, которая не подвергалась процедуре трансдукции». Также вопрос по этому предложению - это были клетки от тех же доноров, МСК которых иммортализовали?
3. Популяция МСК из жировой ткани на 2-3 пассаже еще достаточно гетерогенна. Клетки могут отличаться как по способности пролиферировать, так и по дифференцировочным потенциям. Как это может повлиять на эффективность иммортализации? Можно ли получить иммортализованных коммитированных потомков МСК, например, остео- или хондробластов? Как принято учитывать гетерогенность МСК в первичной культуре?
4. Что известно о продукции внеклеточного матрикса иммортализованными МСК?
5. Есть ли работы по оценке тератогенной активности МСК_{ТERT} на животных?

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно

требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Примак Александра Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственного научного центра Российской Федерации - Института
медико-биологических проблем Российской академии наук

Андреева Елена Ромуальдовна



Контактные данные:

тел.: 7(916)5551426, e-mail: andreeva_er@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.03.01 – Физиология, 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

123007, г. Москва, ул. Хорошёвское ш., д. 76А,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, лаборатория клеточной физиологии

Тел.: 7(499)1956301; e-mail: andreeva_er@mail.ru

Подпись Андреевой Е.Р. удостоверяю

Начальник отдела кадров ГНЦ РФ -
ИМБП РАН



Н.А. Галанина