

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Матвеевой Дианы Константиновны «Влияние физиологической гипоксии *in vitro* на свойства внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа соискателя Матвеевой Дианы Константиновны представляет собой междисциплинарное экспериментальное научное исследование фундаментального плана, направленное на изучение и оценку влияния физиологической гипоксии *in vitro* на свойства внеклеточного матрикса, вырабатываемого мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (МСК).

Дизайн диссертации, комплекс современных методов исследования, сформулированная цель и поставленные задачи полностью соответствуют шифру научной специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Актуальность работы обусловлена, прежде всего, главным объектом диссертационной работы, а именно мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, вырабатывающими, в соответствии с условиями эксперимента, внеклеточный матрикс (ВКМ) при различном содержании O_2 .

Клетки, использованные в работе, были получены из стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека. Выполнены серии экспериментов культивирования МСК в разных условиях содержания O_2 : при 20% и 5%.

Уровень содержания O_2 является важным фактором микроокружения и регулятором функциональной активности МСК, в частности, в плане синтеза этими клетками ВКМ, так как он обеспечивает интеграцию клеток в структуре ткани, образуя трехмерную молекулярную сеть вокруг клеток и регулируя различные процессы их жизнедеятельности, и прежде всего, взаимодействие и взаимосвязь этих компонентов ткани.

Изучение активности ВКМ, получаемого от МСК при различных уровнях O_2 , крайне актуально с точки зрения понимания механизмов регуляции локального микроокружения. Кроме того, синтезируемый МСК матрикс, привлекает внимание специалистов в области биологии и регенеративной медицины, как потенциальный контейнер – носитель клеток в гибридных тканеинженерных конструкциях, продуктах биофабрикации и биопринтинга – 3D-печати органов и тканей с целью использования их в реконструктивно-восстановительной и заместительной хирургии. Данный подход может сыграть большую роль в медицине будущего.

Поэтому исследование подходов экспансии МСК с получением продуктов их секреторной активности (ВКМ) с заданными свойствами под влиянием различных внешних факторов является крайне важным и своевременным.

Таким образом, тема диссертационной работы Матвеевой Д.К., направленная на изучение свойств и регуляторной активности ВКМ, продуцируемого МСК в условиях физиологической гипоксии, является актуальной.

Научная новизна

На основании используемых в работе протеомных и полногеномных методов исследования убедительно продемонстрировано значение уровня O_2 в формировании матрикса МСК.

В работе впервые установлено, что экспансия МСК при физиологической гипоксии изменяет характер упаковки ВКМ. Автором комплексно и наглядно продемонстрировано, что такие изменения могут быть связаны с трансформацией белкового профиля и активности ремоделирующих молекул.

Впервые установлено, что состав белков ВКМ, определяемый уровнем O_2 в микроокружении МСК, отражает их гипоксически опосредованные свойства.

Впервые описано замедление остеоконмитирования и соответствующее изменение паракринного профиля МСК, культивируемых на МСК-образуемом ВКМ, полученном при физиологической гипоксии.

Научная и практическая значимость

Полученные в работе данные о том, что тканевой уровень O_2 является важным фактором для модуляции свойств МСК-образуемого ВКМ, расширяют знания о реципрокном взаимодействии малодифференцированных стромальных клеток с компонентами их микроокружения. Результаты могут быть использованы для дальнейших фундаментальных исследований механизмов взаимодействия ВКМ-клетка.

Большое практическое значение имеют полученные данные об изменении топологии и белкового состава ВКМ, в том числе депонированных факторов роста, при физиологической гипоксии. Формирование ВКМ *in vitro* с определенными свойствами за счет использования факторов микроокружения, таких как уровень O_2 , представляет интерес для изучения влияния ВКМ на функциональную активность МСК, в том числе в связи с возможностью использования МСК-образуемого ВКМ для получения биосовместимых покрытий и биоинженерных конструкций. Полученные данные могут быть перспективными для разработки протоколов и рекомендаций в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Представленная научная работа является междисциплинарной, грамотно спланированной, и корректно реализованной. Название работы комплементарно поставленной цели, задачи исследования полностью соответствуют выводам.

Полученные результаты являются достоверными и воспроизводимыми, их статистическая обработка проведена с использованием адекватного пакета инструментов и соответствующих статистических методов. Представляемые к защите научные положения обоснованы. Выводы из диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и научным положениям.

Материалы диссертационной работы опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Scopus и RSCI, и представлены на 10 научных конференциях. Автореферат в сжатом виде отражает ключевые разделы диссертации.

Структура диссертации

Диссертация построена по стандартному образцу и состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения), заключения, выводов и списка литературы, включающего 376 источников, из них 25 на русском и 351 на иностранном языке, содержит 38 рисунков и 8 таблиц. Текст диссертации соответствует установленным правилам научного цитирования, библиографические ссылки оформлены в соответствии с требованиями ГОСТ.

Структура диссертационной работы упорядочена, направлена на достижение поставленных целей и задач исследования.

В «Обзоре литературы» подробно охарактеризован матрикс стромальных клеток и разобраны аспекты, включающие факторы тканевого микроокружения МСК и влияющие на ВКМ-опосредованную регуляцию функциональной активности клеток. Хотелось бы отметить, что обзор литературы систематизирован и даёт представление о роли тканевых факторов микроокружения, в частности физиологической гипоксии, в модуляции свойств ВКМ МСК.

Раздел «Материалы и методы» содержит исчерпывающее описание методических подходов. В работе используется широкий спектр культуральных, биохимических, генетических, морфологических, иммунологических методов клеточной и молекулярной биологии, статистической обработки результатов и обработки изображений.

Раздел «Результаты» содержит 12 подразделов и развернуто демонстрирует полученных данные. Все результаты подробно изложены и хорошо проиллюстрированы. Автор работы показал, что транскрипционный профиль генов МСК-образуемого ВКМ значительно модулирован физиологической гипоксией. Далее с использованием комплексных методов было

выполнено сравнение морфологических изменений характера упаковки ВКМ при различных уровнях O_2 . Отмечено выравнивание волокон ВКМ при физиологической гипоксии, что при повторном заселении его клетками влияло на направленность их роста.

Был проведен масс-спектрометрический анализ растворимой фракции ВКМ и выявлено накопление регуляторных, а также тканеспецифичных белков, которые отражают свойства МСК при физиологической гипоксии *in vitro*. Наконец, было оценено влияние МСК-образуемых ВКМ, полученных при различном уровне O_2 , на коммитирование МСК в остеогенном направлении и установлено, что гипоксический матрикс замедляет спонтанную дифференцировку МСК и изменяет паракринный профиль этих клеток.

В разделе «Обсуждение» дан исчерпывающий разбор полученных результатов.

Вопросы и замечания

При общей безусловной положительной оценке работы Д.К. Матвеевой к диссертации имеются следующие вопросы:

1. Является ли термин «Матрисом» авторским (возможно, предложен научным руководителем или используется в научной команде) или же, общеупотребимым, по аналогии с метаболомом, протеомом и геномом, и встречается в научной литературе?

2. Определяли ли массу растворенного O_2 в среде при культивировании клеток в разных условиях? Если определяли, то каким способом и как коррелировали эти результаты с содержанием O_2 в использованной для культивирования смеси газов (5% и 20%)?

3. Термин скаффолд более традиционен для англоязычной литературы и является очень широким понятием, включающим в себя, в том числе, биоинженерные конструкции полностью синтетического происхождения, выполняющие функцию не только вместилища (контейнера, носителя) для клеток, но и объемную, ригидную функции в тканевой инженерии и реконструктивной хирургии.

4. Внеклеточный матрикс не может быть децеллюляризованным, поскольку сам является продуктом жизнедеятельности клеток. Децеллюляризация возможна для ткани (тканевого комплекса), органа.

Заключение


Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости исследования, проведенных диссертантом работ и роли научного руководителя. Диссертационная работа Матвеевой Дианы Константиновны «Влияние физиологической гипоксии *in vitro* на свойства внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток» является законченным научным трудом. Тема диссертации актуальна, результаты имеют новизну, выводы достоверны.

Таким образом, диссертационная работа Д.К. Матвеевой соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. № 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, профессор,
Директор Научно-исследовательского
института биотехнологий НИИ БиоТех

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России



Волова Лариса Теодоровна

(подпись)

г. Самара, улица Чапаевская, д. 89,

Контактный телефон: +7 846 374-10-04 (доб. 4924)

e-mail: www.samsmu.ru

Подпись д.м.н., профессора Воловой Ларисы Теодоровны заверяю

Дата 20.05.2024г.

