

ОТЗЫВ

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

Актуальность темы диссертации

Несмотря на очевидную важность внеклеточного матрикса (ВКМ) как для структурной целостности, так и для формирования и функционирования тканей, глубокое исследование этой структуры началось не ранее 1990 годов. В настоящий момент установлено, что ВКМ представляет собой чрезвычайно динамичную структуру, состав и функции которой точно согласуются с текущим физиологическим состоянием ткани. Более того, воздействовать на функции клеток оказалось возможным, изменяя состав ВКМ.

Центральным типом клеток, обуславливающим продукцию ВКМ в тканях, являются клетки фибробластического ряда, родоначальниками которых считаются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Поэтому большой интерес вызывают работы, посвященные изучению физиологии МСК и, в частности, исследованию механизмов регуляции продукции компонентов ВКМ этими клетками. Одним из важнейших физиологических регуляторов функций клеток является уровень O_2 , однако работ, посвященных исследованию продукции ВКМ при уровне O_2 , соответствующем физиологическому, крайне мало. В связи с этим актуальным является изучение механизмов регуляции состава ВКМ.

Научная новизна

В работе Дианы Константиновны Матвеевой впервые проведен комплексный анализ продукции ВКМ МСК жировой ткани человека при длительном культивировании при уровне O_2 , приближенном к физиологическому. В частности, установлено, что в таких условиях изменяется

ИМБП ВХ, № 08/1641
от «28» 05 2024 г.

характер упаковки ВКМ и продукция ремоделирующих его ферментов, по сравнению с так называемыми «стандартными условиями культивирования» в газовой среде с 20% O₂. Установлено, что постоянное культивирование МСК в условиях пониженного содержания O₂ приводит к повышению экспрессии белков, участвующих в активации пролиферации, ангиогенеза и хондрогенеза. Вероятно, такой профиль экспрессии может соответствовать функциональной активности МСК *in vivo*. В работе впервые установлены отличия структуры ВКМ, продуцированного МСК при уровне O₂, приближенном к тканевому. Важным результатом работы являются выявленные реципрокные взаимодействия ВКМ и МСК. Так, показано, что ВКМ клеток, культивируемых при стандартном или пониженном уровнях O₂, отличается по способности индуцировать дифференцировку МСК после повторного заселения (рецеллюляризации) таких матриксов. Результаты работы имеют большое значение для понимания физиологии МСК и роли этих клеток в поддержании гомеостаза стромального компонента тканей.

Объём и структура диссертации

Диссертация написана по общепринятому плану объёмом в 121 страницу, состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методических подходов, а также главы с описанием собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, а также указателя литературы, включающего 376 печатных работ. Работа проиллюстрирована 6 таблицами и 38 рисунками, в которых наглядно представлены полученные результаты.

Во введении автор обосновывает актуальность и целесообразность избранной темы, формулирует цель и задачи работы, определяет ее характер. Цель работы ясно сформулирована, содержит основную гипотезу исследования. Постановка задач соответствует цели исследования. Следует отметить, что задачи ясно сформулированы и позволяют оценить методологию и структуру работы. В обзоре литературы автор подробно описывает существующие в настоящий момент представления о составе, функциях и механизмах регуляции

ВКМ. Важной частью анализа данных литературы является описание подходов к освобождению ВКМ от продуцировавших его клеток (децеллюляризации) и указание возможных областей применения таких матриксов, в частности, в составе тканеинженерных конструкций. Обзор составлен по материалам 376 печатных работ, что свидетельствует о глубоком осмыслении вопроса автором. Содержание обзора позволяет оценить современное состояние исследований в области изучения состава и структуры внеклеточного матрикса, а также известных механизмах регуляции его продукции. Обзор хорошо проиллюстрирован, что облегчает восприятие обсуждаемого материала.

Глава, посвященная материалам и методам, использованным в работе, состоит из описания приборов и расходных материалов, использованных в работе, а также подробного описания примененных в исследовании методик. Работа сделана на очень высоком методическом уровне, методы изложены подробно и могут легко быть воспроизведены. В завершении главы «Материалы и методы» приведен рисунок, суммирующий методические подходы, использованные в работе (рис.13).

В третьей главе последовательно и четко описаны результаты работы и корректно сопоставлены с данными литературы. Автором было показано, что постоянное культивирование МСК в условиях 5% O_2 приводит к изменению экспрессии генов, кодирующих белки ВКМ. Результат анализа транскриптомов МСК свидетельствует как о гетерогенности таких культур, так и о различиях между образцами, полученными от разных доноров. Дианой Константиновной было подробно изучено влияние условий культивирования на особенности структуры ВКМ. Важной частью работы является исследование свойств ВКМ, с помощью получения децеллюляризованных пластов и последующего изучения их свойств, в том числе и после повторного заселения полученных матриксов клетками. Так, автором впервые показано селективное влияние ВКМ, продуцированного МСК при уровне O_2 , приближенном к тканевому, на дифференцировку клеток. Для анализа возможных механизмов наблюдаемых эффектов в работе проведен протеомный анализ децеллюляризованного ВКМ.

Текст диссертации завершается заключением и выводами, которые отражают то новое, что соискатель показала в своей работе. В работу включена итоговая схема, суммирующая основные результаты исследования (рис.38). Представленные выводы соответствуют поставленным задачам, демонстрируют вклад основных достижений автора в развитие исследований, посвященных МСК. Формулировка выводов выверена и представляется весьма корректной.

Принципиальных замечаний по результатам работы нет. По результатам работы возникает следующий вопрос: поскольку жесткость ВКМ является важным фактором, регулирующим фенотип и функции клеток фибробластического ряда, в том числе МСК и их потомков, будут ли формироваться про- или антифибротические условия при уровне O_2 , приближенном к тканевому?

В целом, работа и сам автор заслуживают положительной оценки в связи с высокой научной значимостью полученных результатов и их практического значения как для фундаментальных исследований в области физиологии стволовых клеток, так и для разработки методов культивирования и предтрансплантационной подготовки МСК человека, предназначенных для клеточной терапии.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Д.К. Матвеевой «Влияние «физиологической» гипоксии *in vitro* на свойства внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток», представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, в которой проведен анализ механизмов реципрокного взаимодействия МСК с внеклеточным матриксом в условиях физиологической гипоксии. В работе получены убедительные данные о влиянии длительного культивирования МСК в условиях пониженного содержания кислорода на продукцию белков матрисома этими клетками.

По своей актуальности, научной значимости и практической ценности полученных результатов, диссертационная работа соответствует требованиям,

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. No 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ No 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присвоения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. «физиология человека и животных».

Официальный оппонент:

канд. биол. наук., доцент
Ведущий научный сотрудник
НИИ генных и клеточных технологий
Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»

24.05.2024г.

 Наталья Игоревна Калинина

адрес: 119192, Москва,
Ломоносовский пр-т, д. 31, корп. 5
телефон: 89165551636
адрес электронной почты: n_i_kalinina@mail.ru

Подпись кбн, внс Калининой Н.И. заверяю,
Декан
Факультета фундаментальной медицины
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова,
академик



В.А. Ткачук