

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), член-корреспондент РАН, доктор биологических наук  
Кочетов А.В.



«20» ноября 2020 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

о научно-практической ценности диссертации  
Салиховой Дианы Ирековны «Нейропротективные свойства нейрональных и глиальных клеток-предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

### Актуальность темы выполненной работы

На сегодняшний день единственным эффективным методом лечения ишемического инсульта является ранняя реперфузия зоны ишемии, которая ограничена узким терапевтическим окном. Однако даже при своевременном применении антиагрегантов и антикоагулянтов у большинства пациентов, перенесших ишемический инсульт, остается стойкий неврологический дефицит в результате гибели нервной ткани в зоне инфаркта мозга. При этом не существует ни одного препарата, эффективность которого была бы подтверждена в многоцентровых рандомизированных клинических исследованиях. Поэтому актуальность поиска препаратов, обладающих нейропротективным действием в условиях ишемии головного мозга, не вызывает сомнения. Особый интерес представляют работы, в которых исследуются способы стимуляции регенерации нервной ткани после ишемического повреждения, в том числе образование новых нейронов (нейрогенез) и сосудов (ангиогенез), формирование нейрональных связей.

Поэтому изучение влияния секретируемых факторов нейрональными и глиальными клетками-предшественниками, полученными из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), на регенеративные процессы нервной ткани является весьма актуальной работой.

### **Связь темы диссертации с планами отраслей медицинской науки**

Диссертационная работа Салиховой Д.И. выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 14.604.21.0184 RFMEFI60417X0184).

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

В диссертационной работе был установлен состав белков, секретируемых нейрональными и глиальными клетками-предшественниками, полученными из ИПСК. Дифференциальный анализ секретомов выявил группы белков, характерных для каждого типа культуры. Так, уникальные белки составляют 31% глиального секретомы и 45% нейронального секретомы. Определен транскрипционный профиль ряда генов: глиальные клетки-предшественники экспрессируют на достаточно высоком уровне гены *GREM1*, *GAS6*, *GDF15*, *LIF*, *TWF2*, *SNX3*, *MYDGF* и *TGFb2*, а нейрональные клетки-предшественники - *FGF8*, *NTN1*, *NPTX2*, *EFBN1*, *SERPINI1* и *VGF*.

Автором впервые проведена сравнительная оценка нейропротективных свойств секретируемых факторов данными типами культур и было показано, что культура глиальных клеток-предшественников обладает выраженной способностью к увеличению жизнеспособности, регенерации аксонов и дендритов мозжечковых нейронов, изолированных из 5-7 дневных новорожденных крысят, и клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y. Установлено, что секретом глиальных клеток-предшественников также обладает терапевтическим эффектом. Его введение животным с

ишемическим инсультом способствует уменьшению неврологического дефицита, оказывает противовоспалительное действие, уменьшая количество фагоцитирующих клеток микроглии/макрофагов и усиливая экспрессию генов противовоспалительных цитокинов *IL4*, *IL10* и *IL13*, и увеличивает количество новообразованных сосудов в области повреждения. При этом показано, что секретом нейрональных клеток-предшественников не обладает выраженным терапевтическим и нейропротективным действием, однако способствует увеличению объемной плотности сосудов.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование базируется на изучении состава секретируемых факторов нейрональными и глиальными клетками-предшественниками и исследовании их нейропротективных, прорегенеративных и противовоспалительных свойств на моделях химической гипоксии, глутаматной эксайтотоксичности *in vitro* и ишемического инсульта *in vivo*. Результаты проведенных исследований были получены с использованием широкого набора биохимических, молекулярно-биологических, иммуноцитохимических, гистологических методов и корректно обработаны с применением современных программ по статистике и компьютерной морфометрии. Экспериментальная работа обоснована достаточным количеством наблюдений и экспериментальных групп. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. В целом работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, корректно изложена и содержит результаты, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

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

Данные диссертационной работы могут послужить основой для разработки новых подходов к терапии сосудистых заболеваний головного мозга. В отличие от традиционных методик, данный подход бесклеточной терапии будет иметь многоцелевую направленность, поскольку обусловлен наличием большого количество мишеней из-за секреции широкого спектра факторов, способствующих регенерации ткани мозга и обладающих нейропротективными свойствами. Полученные автором данные имеют не только практическую значимость, но и фундаментальную. Выявлены ключевые белки, секретируемые нейрональными и глиальными клетками-предшественниками, и определена их роль в регуляции репаративных процессов нервной ткани.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов**

#### **и выводов работы**

Результаты диссертационной работы используются в лекционных курсах для аспирантов и ординаторов в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова». В перспективе секретом глиальных клеток-предшественников может представлять собой основу препарата для терапии сосудистых заболеваний головного мозга, поскольку обладает нейропротективными и прорегенеративными свойствами.

**Личный вклад соискателя состоит в** планировании и проведении экспериментов, выборе методов исследования, подборе адекватных моделей, заборе материала для исследования, анализе экспериментальных данных и их статистической обработке, обобщении результатов исследования и подготовке публикаций.

Структура работы и ее содержание соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста,

состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка используемых сокращений и списка литературы, включающего 410 источников. Работа содержит достаточное количество таблиц и рисунков, наглядно демонстрирующих результаты исследований. Основные положения диссертации опубликованы в 14 научных изданиях, из них 5 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ. Получено 2 патента на изобретения. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

### **Заключение**

Диссертационная работа Салиховой Д.И. «Нейропротективные свойства нейрональных и глиальных клеток-предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека», выполненная под руководством д.б.н., профессора Гольдштейна Д.В. и д.м.н., доцента Фатхудинова Т.Х., является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача: определены нейропротективные и прорегенеративные свойства секретируемых факторов нейрональными и глиальными клетками-предшественниками, полученными из ИПСК. Результаты диссертационной работы имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии и гистологии, неврологии и регенеративной медицины.

Диссертационная работа Салиховой Д.И. соответствует требованиям п. 9 - 14 Постановление Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. При этом автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном заседании семинара лаборатории эпигенетики развития ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (протокол № 5 от 20 октября 2020 года).

Заведующий лабораторией эпигенетики  
развития ИЦиГ СО РАН,  
д.б.н., профессор,  
специальность 03.02.07 – генетика  
630090, г. Новосибирск, проспект  
Академика Лаврентьева, д. 10  
+7 (383) 363-49-80  
zakian@bionet.nsc.ru



С.М. Закиян

Подпись д.б.н., профессора С.М. Закияна заверяю

Ученый секретарь  
ИЦиГ СО РАН, к.б.н.



печать

Г. В. Орлова