

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Костаревой Анны Александровны на диссертацию Католиковой Наталии Викторовны на тему: «Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*: изучение роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, и модуляции сигнального пути Notch», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Диссертационная работа Католиковой Наталии Викторовны посвящена изучению разрабатываемых в настоящий момент методов клеточной заместительной терапии болезни Паркинсона и включает в себя вопросы дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны, трансплантацию полученных клеток в стриатум лабораторных животных (грызунов) и оценку роли в данных процессах рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами и сигнального пути Notch.

Диссертационная работа изложена на 100 страницах и имеет общепринятую структуру. На страницах 101 – 193 представлена полная копия работы на английском языке.

В разделе «Введение» автор дает широкое обоснование актуальности и новизны выполненного исследования, раскрывает теоретическую и практическую значимость, формулирует цели и задачи, описывает личный вклад в работу.

Раздел «Обзор литературы» состоит из трех частей: 1) «Клеточная заместительная терапия болезни Паркинсона и дифференцировка плюрипотентных клеток человека в дофаминергические нейроны» 2) «Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами» 3) «Сигнальный путь Notch». Выделение данных частей логически обосновано и соответствует основным задачам исследования, поскольку работа включает в себя изучение ряда аспектов, объединенных идеей разработки методов клеточной заместительной терапии болезни Паркинсона. Автор описывает историю развития подходов для клеточной заместительной терапии болезни Паркинсона от появления идеи и первых попыток трансплантации в мозг экзогенных нейронов до начала современных клинических испытаний, основанных на введении в стриатум пациентов дофаминергических прогениторов, полученных путем дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток человека. Автор подробно описывает принципы, на которых основаны имеющиеся на сегодняшний момент протоколы нейрогенной дифференцировки, и раскрывает задачи, которые стоят на современном этапе разработки данных методик. В части, посвященной рецепторам, ассоциированным со следовыми аминами, автор описывает систему следовых аминов, предпосылки и научное обоснование функциональной значимости относительно недавно открытых рецепторов, дает современное представление об их функциях и связи с различными нейропсихическими заболеваниями, убедительно обосновывает актуальность их изучения в контексте проводимого исследования. Раздел, посвященный сигнальному пути Notch,

подробно описывает сам сигнальный путь и его отдельные компоненты, его значимость в развитии и функционировании нервной системы, особенности данного сигнального пути, связанные с чувствительностью к уровню активации других внутриклеточных сигнальных каскадов, дается подробное обоснование актуальности его модуляции на разных этапах дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток человека для достижения максимального эффекта дифференцировки.

В разделе «Материалы и методы» описаны подходы и экспериментальные процедуры, которые были использованы автором в ходе выполнения представленного исследования. Данный раздел наглядно демонстрирует широту используемых методов, что в значительной степени определяет объем выполненной работы: экспериментальный этап с лабораторными животными, гистологические исследования, ведение линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и их дифференцировка в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*, иммунофлюоресцентные методы, работа с лентивирусными конструкциями и трансдукцией, базовые молекулярно-биологические методы, РНК-секвенирование и другие.

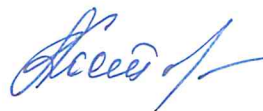
Раздел «Результаты» состоит из трех подразделов: 1) «Дифференцировка iPSC человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*», в котором автор подробно описывает протокол и результаты дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны и особенности его воспроизведения на четырех клеточных линиях; 2) «Взаимосвязь системы TAARs, нейрогенеза и дифференцировки дофаминергических нейронов *in vitro*», в котором автор описывает результаты сравнения животных (мышей), нокаутных по TAAR2, TAAR5 и мышей дикого типа и проводит анализ экспрессии TAARs в гиппокампе экспериментальных животных. Во второй части данного раздела проведена оценка экспрессии данных рецепторов на разных этапах дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны; 3) «Влияние модуляции сигнального пути Notch на начальные этапы дифференцировки iPSC человека в дофаминергические нейроны», в котором с высокой степенью доказательности продемонстрированы эффекты модуляции сигнального каскада Notch на процесс дифференцировки индуцированных плюрипотентных клеток в направлении дофаминергических нейронов. Полученные результаты подкрепляют полноту решения поставленных задач, их интерпретация и степень доказательности не вызывают сомнения.

В разделах «Заключение» и «Выводы» автор суммирует полученные результаты, подводит общие итоги работы, описывает перспективу дальнейших разработок в данной области и планируемый ход их выполнения, формулирует выводы. Выводы соответствуют поставленным задачам, а полученные данные полностью свидетельствуют о том, что система рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, оказывает влияние на нейрогенез и, в частности, нейрогенез дофаминергических нейронов; ранние стадии дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны не чувствительны к ингибированию сигнального пути Notch, в то время как активация данного каскада приводит к значимым эффектам в отношении дифференцировки.

В целом, диссертация Католиковой Наталии Викторовны на тему: «Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*: изучение роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, и модуляции сигнального пути Notch» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Католикова Наталия Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Член диссертационного совета

Д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, профессор кафедры факультетской терапии с клиникой, Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург



Костарева А.А.

16.06.2023

Дата

ОТДЕЛ ПЕРСОНАЛА

Директор А.В. Костарева

Министр здравоохранения Российской Федерации

Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова

16.06.2023

