

## ОТЗЫВ

официального оппонента, зам. зав. лабораторией специальных клеточных технологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)», доктора медицинских наук, Темнова Андрея Александровича на диссертацию Зуриной Ирины Михайловны «Сравнительное исследование эпителио-мезенхимной пластичности соматических клеток человека в условиях 3D культивирования», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – «Патологическая физиология».

Основным объектом исследования в области клеточной биологии и изучении клеточных механизмов патологических процессов стали клеточные линии и первичные культуры. 2D и 3D культивирование эмбриональных, экстраэмбриональных, соматических клеток взрослого человека заполнило нишу между биологией клеток и физиологией тканей. 3D культивирование соматических клеток млекопитающих и человека стало удобной моделью для изучения процессов клеточного репрограммирования и дифференцировки, сигналов морфогенеза и органогенеза в условиях *in vitro*.

Эпителио-мезенхимные переходы, участвующие в регуляции не только процесса репаративной регенерации, но и развития ее патологической формы – фиброза, стали предметом пристального изучения в исследовательских кругах в последние два десятилетия. Несмотря на консервативность общих механизмов регенерации в эволюционном ряду, млекопитающие практически утратили способность полностью восстанавливать обширные участки организма после повреждения. Известно, что некоторые органы и ткани обладают повышенной способностью репарировать в ответ на обширное повреждение. Однако полноценной репаративной регенерации не всегда удается достичь. Часто репарация обширных повреждений сопровождается фиброзированием тканей с изменением фенотипа резидентных клеток в результате эпителио-мезенхимных переходов. При этом никто не исследовал тканевой специфичности изменения фенотипа клеток и пластичности данного процесса.

В связи с этим выбор диссертантом в качестве источника эпителиальных клеток двух тканей с разным, диаметрально противоположным регенеративным потенциалом в сравнении с мезенхимными клетками является, на мой взгляд, очень удачным и актуальным, тем более что пластичность клеток слизистой оболочки щеки до этого не была исследована.

Таким образом, сформулированная автором проблема изучения пластичности соматических клеток человека эпителиального и мезенхимного фенотипов на простой 3D клеточной модели актуальна, и имеет важное значение не только медицинской практики, но и для фундаментальной науки.

Диссертация построена по классической общепринятой схеме и содержит все необходимые разделы. Работа изложена на 176 страницах, включает 50 рисунков и 6 таблиц, в списке литературы значится 191 источник. Большое количество цитируемой литературы в основном приходится на обзорную часть работы, которая представляет собой хорошо проработанный и структурированный анализ современных данных как о регуляции процесса эпителио-мезенхимных переходов, так и их участии в развитии фиброза в различных тканях и органах и определении дифференцировочного статуса клеток. Кроме того, в литературной части дается четкое обоснование для перехода от классических систем многослойного культивирования к трехмерным структурам, в том числе и в контексте изменения пластичности клеток. Приведенный анализ литературы в полной мере обосновывает актуальность исследования и поставленные в рамках него цель и задачи.

Работа Зуриной И.М. выполнена с использованием большого количества методов исследования, которые автор очень подробно изложил в соответствующем разделе. Особое внимание уделено методике 3D культивирования и подбору стандартизированных условий с привлечением метода математического моделирования, которое отражает современный подход в клеточной биологии.

Полученные результаты можно разделить на 3 больших смысловых раздела: исследование динамики поведения клеток в монослойной культуре,

перевод их в неадгезивные условия и изучение процесса сфероидогенеза и изменения клеточного фенотипа в 3D культуре, а также моделирование повреждения с использованием 2D и 3D подходов. Все результаты исследования подробно описаны, хорошо проиллюстрированы и их достоверность не вызывает сомнений.

Кроме того, автор использует систему вторичноприкрепленной культуры как дополнительный инструмент для оценки миграционной активности и поведения клеток.

Впервые для изучения процесса репарации и его связи с эпителио-мезенхимной пластичностью были использованы подходы 2D и 3D культивирования. Механическое повреждение монослойных культур клеток разного фенотипа в виде нанесения «царапины» позволило выявить значительную разницу в коллективном поведении эпителиальных клеток в сравнении с клетками мезенхимного фенотипа. Особый интерес представляет собой метод лазерной микродиссекции для создания «раны» на сфероидах. Такой подход является промежуточным звеном между монослойными культурами, в которых не воспроизводятся нативные условия и экспериментами *in vivo*. Впервые автором было показано, что репаративный процесс может происходить только за счет перераспределения пластичных клеток в отсутствие их деления.

Благодаря разнообразию методик и подходов, которые автор использовал в своей работе, а также тщательному анализу, описанию полученных результатов и их сравнению с имеющимися данными в литературе, выводы и положения, сделанные в диссертационной работе, представляются достоверными и не вызывают сомнений.

Автором сделан основной вывод, что соматические клетки, выделенные из тканей с разным регенеративным потенциалом, в 3D условиях в разной степени претерпевают эпителио-мезенхимные и мезенхимо-эпителиальные переходы, что определяет их тканеспецифичную пластичность и способность к репарации.

Диссертация Зуриной И.М. является фундаментальным исследованием, которое, тем не менее, имеет большое практическое значение. Прежде всего, сфероиды представляются собой уникальную модель для исследований *in vitro* как процессов физиологической регенерации, так и процессов репарации при различных патологических воздействиях. Изучение эпителио-мезенхимной пластичности соматических клеток разного фенотипа из тканей с разным регенеративным потенциалом поможет найти современные новые методы лечения и профилактики таких патологических процессов, как фиброз и метастазирование.

**Подтверждение опубликования основных положений диссертации в научной печати.** По материалам диссертации сделано 13 статей: 10 работ в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 2 статьи в рецензируемых журналах списка Web of Science, а также доложены на 13 российских и международных конференциях.

**Соответствие автореферата основным положениям диссертации.** Автореферат диссертации полностью отражает разделы и положения диссертации, резюмирует полученные результаты.

Принципиальных замечаний по работе нет. В качестве дискуссии хотелось бы узнать:

- 1) Что, по мнению автора, будет происходить при многократном повторении циклов монослойного и 3D культивирования?
- 2) Каким автор видит дальнейшее развитие и применение методики лазерной микрохирургии сфероидов?

### **Заключение**

Диссертация Зуриной Ирины Михайловны «Сравнительное исследование эпителио-мезенхимной пластичности соматических клеток человека в условиях 3D культивирования» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченным самостоятельным исследованием, положения которого имеют фундаментальное и прикладное значение для

патологической физиологии, клеточной биологии и регенеративной медицины. Представленная диссертация полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным постановлением правительства РФ от 24.09.13 № 842, а ее автор И.М. Зурина заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.03 - Патологическая физиология.

Зам. зав. лабораторией специальных  
клеточных технологий  
Федерального государственного  
автономного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Московский физико-технический  
институт (государственный университет)»

23.01.2018



Темнов А.А.

Темнов Андрей Александрович: 141701, Московская область, г. Долгопрудный,  
Институтский переулок, д.9.

e-mail: aa-temnov@yandex.ru

+7(495)-408-45-54

Подпись д.м.н.Темнова А.А. заверяю

Ученый секретарь МФТИБ, к.ф.-м.н.

Скалько Юрий Иванович

