

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
Федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования "Российский
национальный исследовательский
медицинский университет имени
Н.И. Пирогова" Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор биологических наук,
профессор Д.В. Ребриков



«07» сентября 2020г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Джуссоевой Екатерины Витальевны «Изучение функциональной активности меланоцитов, культивированных *in vitro* в 2D и 3D условиях», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – «Патологическая физиология».

Актуальность темы. Рост заболеваний, связанных с нарушением пигментации, затрагивает интересы большого числа населения России и является серьезной проблемой современного здравоохранения. Так одной из патологий нарушения продукции пигмента, приводящего к гипопигментации является витилиго. Витилиго встречается у 0,05–1% населения мира и это самая частая причина депигментации во всем мире.

Изменения функциональной активности меланоцитов могут приводить к нарушению защитной функции кожи и развитию заболеваний, из которых самым серьезным является рак кожи. Собственно нарушение функции меланоцитов и меланогенеза провоцируют развитие меланомы, составляющего порядка 1,8% от всех онкологических заболеваний. Важным моментом решения этих проблем является проведение исследований по изучению функционирования пигмент - продуцирующих клеток.

Известно, что метод культуры клеток достаточно широко используется как в научных исследованиях, так и производстве медицинских иммунобиологических препаратов. Как правило, исследования проводятся на монослойной (2D культуре) клеток. Несмотря на удобство метода, следует отметить, что клетки в 2D культуре теряют многие характеристики, меняют фенотип и не всегда отражают функциональную активность клеток. На современном этапе развития биологии и медицины метод 3D культуры рассматривается как наиболее перспективный, поскольку позволяет имитировать состояние микроткани *in vitro*. Однако, согласно данным литературы, метод выращивания меланоцитов в виде микросфер использовался только для культивирования клеток, выделенных из меланом и используемых для изучения процессов в патологически измененных раковых клетках. Вместе с тем высокая частота развития патологии меланогенеза и необходимость поиска новых лекарственных или профилактических препаратов требуют новых моделей исследования с использованием нормально функционирующих меланоцитов. Таким образом, исследование Джуссоевой Е.В. по

изучению поведения меланоцитов в 2D и 3D условиях, анализу активности процесса меланогенеза и созданию модели для исследования нормы и патологии функционирования меланоцитов, а также для изучения эффективности лечебных или профилактических препаратов является актуальным, научно и практически значимым.

Связь с планом научных исследований. Диссертационная работа Джуссоевой Е.В. на тему «Изучение функциональной активности меланоцитов, культивированных *in vitro* в 2D и 3D условиях», выполнена в соответствии с тематикой и планом научной деятельности Федерального государственного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». Работа соответствует специальности 14.03.03 - патологическая физиология.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В диссертационной работе Джуссоевой Е.В. впервые отработана уникальная воспроизводимая методика культивирования меланоцитов кожи человека в 3D условиях, позволяющая получать плотные сфероиды из меланоцитов. Сравнительные исследования позволили автору показать, что усиление пигмент-продуцирующей активности клеток в сфероидах выражено в большей степени, чем в тканевых эквивалентах, что свидетельствует о восстановлении и поддержании их фенотипа и функциональной активности в процессе сфероидогенеза.

Автором впервые проведен анализ продукции транскрипционных факторов и экспрессии специфических генов тирозиназы (*TYR*) и рецептора к меланокортину 1 (*MC1R*) в меланоцитах в составе тканевых эквивалентов Меланодерм и в сфероидах. Проведенные исследования позволили автору получить новые фундаментальные данные о влиянии условий культивирования клеток на их функциональную активность.

Иммуноцитохимический анализ экспрессии транскрипционных факторов меланогенеза *gp100*, *MITF* и *Sox10*, а также анализ методом ПЦР в реальном времени экспрессии генов *MC1R* и *TYR* в меланоцитах, культивированных в тканевой конструкции Меланодерм и в сфероидах, позволил автору получить новые уникальные данные о ингибирующем действии фукоксантина на функциональную активность меланоцитов в составе тканевых эквивалентов Меланодерм и сфероидов не только на уровне синтеза ключевых белков, но и на уровне активности ключевых генов. Впервые на модели сфероидов из меланоцитов показано, что фукоксантин способен подавлять экспрессию фактора регуляции созревания меланосом *gp100*.

Джуссоевой Е.В. впервые получены доказательные данные о сохранении жизнеспособности клеток в сфероидах в течение длительного времени в отличие от тканевых эквивалентов, а также более высокая чувствительность к воздействию активного вещества (фукоксантина).

Выводы диссертации научно обоснованы, базируются на анализе достаточного количества материала с применением современных (цитологического, иммуноцитологического и иммуногистологического анализов культивированных клеток, определение культуральных характеристик клеток путем прижизненного наблюдения на приборе Cell-IQ (CM Technologies, Финляндия). методов исследования, адекватных поставленной цели и задачам научной работы, что позволяет рекомендовать полученные данные к использованию в исследованиях по поиску новых препаратов для профилактики, коррекции или лечения нарушений пигментации кожи.

Научная и практическая значимость полученных автором диссертации результатов. Фундаментальные данные, полученные в результате исследований, позволяют лучше понимать процесс меланогенеза, а также механизмы изменения функциональной активности меланоцитов кожи человека, что важно для понимания патогенеза нарушений пигментации. Результаты по изменению экспрессии ключевых

факторов меланогенеза могут стать основой для разработки новых высокоэффективных препаратов для профилактики и терапии заболеваний и коррекции возрастных изменений, связанных с нарушением пигментации, а дерматологам и косметологам разработать продукты, позволяющие снизить риск развития рака кож. Это позволит снизить потери от социально-значимых заболеваний и подчеркивает высокое значение диссертационной работы для практической медицины

Фундаментальные знания о процессе меланогенеза и о роли условий 2D и 3D культивирования на функциональную активность меланоцитов могут быть использованы для разработки новых уникальных методов клеточной терапии при дефектах пигментной системы, а также при создании ткане-инженерных конструкций кожи для регенеративной медицины. Сопоставление результатов исследования с таковыми других авторов дают основания считать, что полученные в работе данные являются новыми и достоверными. В диссертационном исследовании приведено большое количество микрофотографий, таблиц и расчетных данных, что позволяет объективно оценивать результаты исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Научные положения и фактические данные, сформулированные в диссертации, могут использоваться как в работе научно-исследовательских коллективов, занимающихся проблемами этиологии и патогенеза нарушений пигментаций, онкологических заболеваний, так и в клиниках, участвующих непосредственно в лечении этих заболеваний. Материалы диссертации могут быть включены в курс лекций и практических занятий для студентов, ординаторов и аспирантов, проводимых на кафедрах клинической лабораторной диагностики, клинической патофизиологии, а также включить в программы обучения лечебников, педиатров и специалистов клинической лабораторной диагностики на циклах профессиональной переподготовки, повышения квалификации и тематического усовершенствования.

Оценка структуры, языка и стиля диссертации. Диссертация построена по традиционному плану. Ее материалы изложены на 112 страницах машинописного текста. Работа включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результатов исследования с их обсуждением, заключение, выводы и список цитируемой литературы, содержащий 131 источник (13 отечественных и 118 зарубежных). Рукопись содержит 1 таблицу и 39 рисунков. Диссертация изложена хорошим научным языком, грамматически и стилистически правильно, представлена целостно и логично, имеет существенную научную новизну и практическую значимость.

Замечания

При анализе диссертации Джуссовой Е.В. принципиальных замечаний не имеется. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а тема исследования - специальности 14.03.03 - патологическая физиология.

Заключение

Диссертационная работа Джуссовой Екатерины Витальевны по теме «Изучение функциональной активности меланоцитов кожи человека, культивированных в 2D и 3D условиях», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, содержащую новое решение актуальной задачи современной патофизиологии: изучению характеристик и пигмент-продуцирующей активности меланоцитов кожи человека, культивированных в 2D и 3D условиях. Диссертация соответствует пункту 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской

Федерации №1168 от 01 октября 2018г.), а ее автор, Джусоева Екатерина Витальевна, заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология.

Отзыв обсужден и утвержден на научно-методической конференции сотрудников кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, протокол № 2 от 07.09. 2020 г.

Почетный профессор РНИМУ им. Н.И. Пирогова,
профессор кафедры патофизиологии и
клинической патофизиологии лечебного
факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им.
Н.И. Пирогова» Минздрава России
д.м.н., профессор член-корр. РАН

Порядин Геннадий Васильевич

Заведующий кафедрой патофизиологии
и клинической патофизиологии лечебного
факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

Салмаси Жан Мустафаевич

Подпись, профессора Порядина Г.В. и профессора Салмаси Ж.М. заверяю:
Ученый секретарь
ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России
Доктор медицинских наук, кандидат наук

Милушкина Ольга Юрьевна



Федеральное государственное автономное образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России). 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1. Телефон: (495) 434-14-22. Адрес электронной почты: rsmu@rsmu.ru. Официальный сайт организации: <http://rsmu.ru/43.html>.