

ОТЗЫВ

на автореферат докторской диссертации Малашичевой Анны Борисовны
**«Тканеспецифические особенности сигнального пути NOTCH
в клетках сердечно-сосудистой системы»**
по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертационное исследование Анны Борисовны Малашичевой посвящено изучению роли сигнальных путей DELTA/NOTCH в развитии ряда патологий сердечно-сосудистой системы человека. Заболевания сердечно-сосудистой системы являются основной причиной смертности в развитых странах, тем не менее, молекулярно-клеточные механизмы, приводящие к возникновению и прогрессу патологических состояний изучены недостаточно, что затрудняет разработку эффективных средств лечения и профилактики данного класса заболеваний. Все вышесказанное определяет высокую актуальность исследований А. Б. Малашичевой, послуживших основой ее диссертационной работы. Ряд данных популяционной медицинской генетики указывал на возможную роль сигнальных путей DELTA/NOTCH в ряде патологий сердца и аорты у человека. В частности, был описан ряд мутаций в генах рецепторов семейства NOTCH и их лигандов семейства JAGGED и DELTA, ассоциированных с рядом врожденных пороков сердца. Данные факты легли в основу исследований А. Б. Малашичевой, предположившей, что к развитию сердечно-сосудистых патологий могут приводить не только мутации, нарушающие структуру и функции компонентов сигнального пути DELTA/NOTCH, но и изменения экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие в данном сигнальном каскаде. В результате проведенных исследований данное предположение нашло блестящее подтверждение. А. Б. Малашичева впервые показала, что в клетках пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями происходит изменение паттерна экспрессии генов *NOTCH* и его мишеней по сравнению с контрольными клетками здоровых людей. Несомненным достоинством работы является комплексный подход, заключающийся в анализе экспрессии генов во всех основных клеточных типах, формирующих сердце и внутреннюю поверхность аорты — эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках, кардиомиоцитах, интерстициальных клетках аортального клапана и мезенхимных клетках сердца. В работе впервые продемонстрировано, что направления дифференцировки гладкомышечных клеток, зависящие от миокардина и TGF- β , ослаблены у пациентов с аневризмой грудной аорты, ассоциированной с двустворчатым или трёхстворчатым аортальным клапаном. Впервые показано, что в эндотелиальных клетках пациентов с аневризмой аорты активность пути Wnt/ β -катенин существенно повышена, а регуляция генов, отвечающих за реакцию клеток на стресс напряжения сдвига, нарушена по сравнению с клетками здоровых доноров. Получены

данные, указывающие на нарушения регуляции NOTCH-зависимого эндотелиально-мезенхимного перехода в эндотелиальных клетках аортального клапана пациентов с кальцификацией. Впервые показан дозозависимый эффект активации NOTCH в отношении остеогенной дифференцировки и впервые получены данные о том, что высокая доза активации NOTCH может вызывать подавление остеогенной дифференцировки. Особый интерес представляют данные о роли ядерного ламина А в активации генов-мишеней внутриклеточного домена NOTCH (NiCD). Впервые показана тканеспецифичность фенотипического проявления мутаций ядерного ламина А (R482L и R527C) на клеточную дифференцировку.

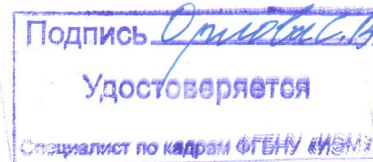
Работа была выполнена с использованием самых современных методов клеточной и молекулярной биологии, что позволило диссертанту опубликовать 57 статей в ведущих отечественных и международных журналах. Вызывает вопрос проведенное автором выделение определенных сигнальных каскадов в особую группу, якобы отвечающую за межклеточные взаимодействия (см. раздел «Актуальность работы»). Непонятны критерии, на основании которых данные сигнальные каскады оказались отнесены в эту группу, а точнее, почему там же не оказались другие пути передачи сигналов, такие, например, как MAP-киназные каскады, которые играют не меньшую роль в межклеточных взаимодействиях, чем перечисленные автором сигнальные пути. Есть также замечание к методологической части, в частности, к анализу экспрессии генов методом RealTime RT-PCR. Современные стандарты предполагают использование нескольких референсных генов для выравнивания уровня экспрессии исследуемых генов, что обусловлено высокой вариативностью уровней экспрессии отдельных генов «домашнего хозяйства», используемых в качестве референсных, и тканеспецифическими изменениями в их экспрессии в ответ на различные стимулы. Использование для выравнивания среднего геометрического из уровней экспрессии двух, а лучше трех или четырех референсных генов позволяет свести к минимуму эти неспецифические колебания и избежать ошибок в интерпретации результатов анализа экспрессии исследуемых генов. Между тем, автор использовал для выравнивания единственный ген *GAPDH*, кодирующий фермент глицеральдегидфосфатдегидрогеназу. Тем не менее, основные результаты, полученные с помощью RealTime RT-PCR, были подтверждены альтернативными методами, что в значительной степени компенсирует указанный недостаток и не дает усомниться в достоверности представленных результатов.

Выводы диссертационного исследования адекватны поставленным задачам. Уровень проведенного исследования и исчерпывающие ответы на поставленные в нем вопросы позволяют высоко оценить докторскую диссертационную работу А. Б.

Малашичевой и рекомендовать эту работу к защите на Диссертационном совете по специальности 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология).

с. н. с. отдела биохимии
Института экспериментальной
медицины, к.б.н.

С. В. Орлов



Брятова К.А.

