

## О Т З Ы В

на автореферат диссертации «Закономерности нормального и патологического развития плюрипотентных стволовых и тератокарциномных клеток млекопитающих», представленной Ольгой Федоровной Гордеевой на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «03.03.04. – клеточная биология, цитология, гистология»

Многие вопросы, касающиеся биологии стволовых клеток, остаются еще малоизученными. Тем не менее, уже сейчас ясно, что разработка новых методов, основанных на использовании стволовых клеток, несет в себе огромный потенциал для практической медицины. С другой стороны, очень остро стоит проблема безопасности быстро развивающихся клеточных технологий для здоровья человека, поскольку риск превращения трансплантированных нормальных стволовых клеток в опухолевые клетки достаточно высок. Не случайно проекты законов о применении клеточных технологий для лечения многих опасных заболеваний находятся еще на стадии обсуждения. На сегодняшний день единственной законной клеточной технологией, используемой в медицине, является терапия культивируемыми аутологичными фибробластами. Исходя из вышесказанного, очевидно, что диссертационная работа О.Ф. Гордеевой, посвященная выявлению закономерностей в молекулярных и клеточных механизмах самообновления, дифференцировки и морфогенеза плюрипотентных стволовых и тератокарциномных клеток человека и мыши, является актуальной.

В своей работе диссертант использовал не только различные линии эмбриональных стволовых клеток мышей и человека, но также целый ряд постоянных клеточных линий опухолевых клеток. Кроме того, значительная часть работы была выполнена на эмбрионах мышей и взрослых иммунодефицитных и обычных мышах. При проведении экспериментов Ольга Федоровна использовала большое число современных методов молекулярной и клеточной биологии, что, несомненно, является достоинством ее работы. Широкий охват изучаемой проблемы и большое число современных методик, примененных в работе, позволили диссертанту получить целый ряд новых интересных данных. Среди них особенно интересными мне показались эксперименты, посвященные моделированию *in vitro* раннего развития млекопитающих с использованием плюрипотентных стволовых клеток с целью создания тест-систем для применения их в фармакологии и токсикологии. В результате этих экспериментов диссертант убедительно показала, что ранние стадии дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток могут быть использованы для оценки эмбриотоксичности различных лекарственных препаратов.

При этом важно подчеркнуть, что аналоги разработанных автором тест-систем отсутствуют в мировой практике.

Наверное, любая работа, связанная с бурно развивающимся направлением исследований, в т.ч. диссертационная работа О.Ф. Гордеевой, может вызвать много вопросов. Вопросы у меня следующие:

1. На стр. 3, ссылаясь на работу Nichols, Smith, 2009, автор утверждает, что: «Способность участвовать в развитии не только различных соматических клеток, но и линии половых клеток является *основным отличием клеток, находящихся в базовом статусе плюрипотентности (ground state), от клеток в первичном статусе плюрипотентности (primed state)*». Между тем, в разделе автореферата «Основные положения, выносимые на защиту» говорится о том, что «Поддержание базового (ground state) и первичного (primed state) статусов плюрипотентности клеток млекопитающих ассоциировано с экспрессией генов, специфичных для линии половых клеток». Ниже, в разделе «Научная новизна и теоретическое значение работы» диссертант также пишет: «Впервые показано, что базовый (ground state) и первичный (primed state) статус плюрипотентности клеток млекопитающих ассоциирован с паттернами экспрессии генов, специфичных для линии половых клеток». Означает ли это, что данные, например Nichols и Smith, неверны? Нет ли здесь противоречия?

2. Результаты, представленные в таблицах 2 и 3, свидетельствуют о том, что хотя эффективность развития опухолей в иммунодефицитных мышках после трансплантации мЭСК и чЭСК ниже, чем при трансплантации мЭТК и чЭТК, тем не менее, опухоли развивались. Можно ли допустить, что в этом случае разные уровни туморогенности ЭСК и ЭТК связаны с их различиями в уровнях плюрипотентности?

3. В выводе № 1 написано «Уровни экспрессии генов *Oct4/OCT4* и *Ddx4/DDX4* могут служить индикаторами удаленности от базового статуса плюрипотентности (ground state)». Во-первых, здесь неясно, какой уровень экспрессии этих генов может служить индикатором степени удаленности от базового статуса, больший или меньший? Во-вторых, может ли диссертант, хотя бы приблизительно, оценить степень корреляции между уровнем экспрессии указанных генов и степенью удаленности клеток от базового статуса? Она высокая или не очень?

**Замечания по тексту автореферата:** В работе не указано, сколько раз повторяли те или иные опыты. Кроме того, хотя в автореферате говорится о том, что различия считались достоверными при  $P < 0.05$  для экспериментов по трансплантации и при  $P < 0.001$  для опытов *in vitro*, но ни на одном из рисунков (кроме рис.10) различия средних значений



никак не отмечены. Получается, что доверительные интервалы, указанные на рисунках, приведены лишь для формы.

Далее. На рис.3 не отмечено, какие данные относятся к генам мыши, а какие к генам человека. Наконец, неясно, почему диссертант присвоила Институту молекулярной биологии РАН имя В.А. **Энгельгарта** (стр.2) вместо В.А. **Энгельгардта**. Т.е. при написании фамилии Владимира Александровича диссертант сделала сразу две ошибки!

Следует, однако, подчеркнуть, что все вышеприведенные замечания не имеют принципиального значения.

**Заключение.** Актуальность темы, новизна полученных результатов, широкий арсенал использованных в работе методов и добросовестность проведения экспериментов являются теми положительными характеристиками работы, которые дают основание считать ее удовлетворяющей требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.). Считаю также, что автор диссертации, Ольга Федоровна Гордеева, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности «03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология».



Заведующий лабораторией клеточной патологии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Институт цитологии Российской академии наук

доктор биол. наук, профессор

Кудрявцев Борис Николаевич

(г. Санкт-Петербург 194064 Тихорецкий пр., д.4 Институт цитологии РАН т. 297-37-96,  
bn\_kudryavtsev@mail.ru)

20.01.2015 г.