



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

ул. Вавилова д. 26, Москва, 119334
Тел.: (499) 135-33-22. Факс (499)135-80-12. E-mail: info@idbras.ru
ОКПО: 02699062 ОГРН 1027700450800 ИНН/КПП 7736044850/773601001
<http://idbras.ru>

«У Т В Е Р Ж Д А Ю»

И.о. Директора

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова (ИБР РАН)

На № 09.01.2024 от № 12506/01-1



Н.П. Шарова

«09» января 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу *Чечехина Вадима Игоревича* на тему: «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация альфа1-адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением» на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук по специальностям

1.5.5. Физиология человека и животных и 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы

Цель диссертационной работы В.И. Чечехина заключалась в изучении молекулярных механизмов регуляции мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) катехоламинами. Исследование адренергической регуляции МСК важны для понимания процессов формирования и регенерации жировой ткани. Этот вопрос имеет особую актуальность в связи тем, что ожирение является ключевым патогенетическим фактором развития артериальной гипертензии.

Научная новизна и научно-практическая значимость работы

В диссертационной работе В.И. Чечехина детально исследована $\alpha 1$ -адренергическая регуляция МСК, локализованных в кровеносных сосудах жировой ткани. Установлено, что при активации $\beta 3$ -адренорецепторов увеличивается синтез $\alpha 1$ -АР, и это происходит на уровне трансляции. Показано участие в этом процессе сигнального каскада Gs/аденилатциклаза/ протеинкиназа А. Показана дифференцировка МСК в ГМК-подобный фенотип после увеличения экспрессии в

ИМБП ВХ. № 08/206
от «25» 01 2024 г.

них $\alpha 1$ -АР. Эти результаты являются оригинальными и вносят вклад в понимание биологии МСК.

Научно-практическая значимость работы В.И. Чечехина в значительной степени обусловлена изучением экспрессии $\alpha 1$ -адренорецепторов и их функционального состояния в клетках пациентов с ожирением с разной степенью артериальной гипертензии. Тем самым достигнут прогресс в понимании связи между состоянием данных рецепторов в МСК и адипоцитах и предрасположенностью к гипертензии и сделаны шаги в направлении персонализированного подхода к лечению таких пациентов.

Структура диссертации

Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, изложения результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы, содержащего ссылки на 217 источников. Работа изложена на 117 страницах, содержит 29 рисунков и 6 таблиц.

Оценка содержания диссертационной работы, ее завершенность

Диссертационная работа В.И. Чечехина представляет собой полностью завершенное и подготовленное к защите научное исследование. Ниже дана оценка отдельных разделов диссертации.

Во **Введении** автор обосновывает актуальность темы исследования, излагает основные цели работы и задачи, решаемые в ходе выполнения работы, а также формулирует основные положения, выносимые на защиту. В этом разделе также приводятся сведения об апробации полученных результатов на конференциях и публикациях соискателя по теме диссертации.

Обзор литературы состоит из семи разделов. В первом разделе сначала дается краткое описание МСК, а далее подробно рассмотрена дифференцировка и секреторная активность этих клеток. Следующие разделы посвящены гетерогенности МСК, их нейрогуморальной регуляции, межрецепторному взаимодействию в данных клетках. Важная часть обзора литературы посвящена физиологической функции МСК жировой ткани, а именно их роли в развитии гипертензии при ожирении. В заключении обсуждается вопрос о значении МСК в регенеративной медицине. Таким образом, автору удалось достаточно подробно осветить основные вопросы, касающиеся биологии и функциональной роли данных клеток.

Глава «**Материалы и методы**» содержит подробное описание протоколов иммуногистохимического анализа экспрессии $\alpha 1$ А-адренорецепторов, выделения и культивирования МСК, определения концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток. Два раздела посвящены биоинформационному анализу. Описаны молекулярно-биологические и биохимические методы, метод иммунофлуоресценции, определение контрактильной реакции МСК после воздействия норадреналина. Данный раздел диссертационной работы В.И.

Чечехина говорит о широком диапазоне использованных методов исследования, он хорошо иллюстрирован и заслуживает высокой оценки.

Раздел «Результаты исследования» состоит из восьми разделов. В разделе 3.1 автор описывает сенситизацию культивируемых МСК к норадреналину, вызывающему опосредованный $\alpha 1A$ -адренорецепторами подъём уровня ионов кальция в цитоплазме данных клеток. Явление сенситизации само по себе очень необычное и любые новые сведения о нем представляют немалый интерес. В.И. Чечехин показал, что сенситизация МСК норадреналину является обратимым процессом и, что весьма неожиданно, связано не с увеличением силы реакции клеток, а сначала с появлением новых сенсibilизированных клеток, а потом с их исчезновением. Параллельно с числом реагирующих клеток количество $\alpha 1A$ -адренорецепторов возрастало, а потом падало. Это красивый результат и возникает желание его обсудить. Поскольку в тексте данного раздела об этом не написано, возникают вопросы, было ли постоянным число клеток в течение того периода, когда проводилось наблюдение, удавалось ли отслеживать реагирующие на норадреналин клетки? Не являются ли эти клетки новообразованными, которые нарождаются и исчезают, или есть постоянная и временная популяция чувствительных клеток?

В разделе 3.2 описан ещё один принципиально важный результат. Автор достаточно убедительно доказывает, что сенситизация опосредована действием норадреналина через $\beta 3$ -адренорецепторы. Справедливо полагая, что использование ингибиторного анализа недостаточно, В.И. Чечехин применил метод генного нокаута с помощью технологии CRISPR/Cas9. В целом этот подход подтвердил вывод о роли $\beta 3$ -адренорецепторов в гетерологической сенситизации МСК к норадреналину.

В разделе 3.3 автор определяли, через какой сигнальный механизм осуществляется гетерологическая сенситизация МСК. Применяя ингибиторный анализ, В.И. Чечехин обосновывает участие аденилатциклазы и протеинкиназы А в этом процессе. Далее в диссертации показано, что активация происходит на уровне трансляции, а не транскрипции. Это вывод сделан как по анализу белка $\alpha 1A$ -адренорецепторов, так и по ПЦР-анализу мРНК.

Подводя итог этой части диссертационной работы, следует отметить строгую логику исследования и надёжную доказательную базу. Полученные результаты оригинальны и, что хочется подчеркнуть, неожиданны. Можно утверждать, что они имеют фундаментальное значение, расширяя представления о регуляции чувствительности клеток к норадреналину.

Задачей следующей части диссертационной работы В.И. Чечехина было определение влияния $\alpha 1$ -адренорецепторов на дифференцировку МСК жировой ткани. С помощью транскриптомного анализа им была выявлена популяция клеток, дифференцирующаяся в направлении сократительного фенотипа. Этот вывод был подтвержден в экспериментах по контракции МСК-коллагеновых дисков.

В заключительной части экспериментальной работы была поставлена задача выявить возможную роль гетерологической сенситизации $\alpha 1$ -адренорецепторов в развитии гипертензии у пациентов с ожирением. В.И. Чечехин показал, что феномен сенситизации проявляется в культивируемых МСК, выделенных из жировой ткани пациентов, страдающих ожирением и гипертензией, и отсутствует в клетках, взятых от пациентов с ожирением без гипертензии. Это выявляет связь обнаруженными в экспериментах закономерностями $\alpha 1$ -адренергической регуляцией МСК и патогенезом артериальной гипертензии.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в стандартной форме и в полной мере отражает основные результаты, выносимые на защиту. Автореферат дает полное представление об основных разделах диссертационной работы и о вкладе соискателя.

Апробация диссертации и вклад соискателя

Результаты работы отражены в 6 публикациях, вышедших в свет в 8 отечественных и международных журналах, доложены на 6 научных конференциях и симпозиумах. Автор внес свой вклад на всех этапах выполнения работы, начиная от отработки используемых методик и завершая получением экспериментальных данных и их представления в виде статей и тезисов конференций.

Рекомендации по использованию научных выводов диссертационной работы

Прежде всего следует отметить научное значение выводов диссертационной работы В.И. Чечехина. Они могут служить хорошей базой для продолжения исследований в области биологии мезенхимных стромальных клеток. На основе открытого феномена сенситизации $\alpha 1A$ -адренорецепторов в перспективе могут быть разработаны новые подходы к профилактике и лечению гипертензии у больных с ожирением.

Научные результаты диссертации имеют фундаментальное значение и могут быть включены в курс лекций по клеточной биологии в МГУ им. М.В. Ломоносова и других учебных заведениях биологического и медицинского профиля.

Замечания и вопросы

Существенные замечания по диссертационной работе В.И. Чечехина отсутствуют. Можно отметить технические погрешности, не умаляющие ценность данного исследования.

1. В подписях к рисункам следовало указать не только значения p , но и количество измерений.
2. Список сокращений неполный. В частности, в разделе 1.1.1. отсутствуют расшифровки сокращения С/ЕВР β (ССААТ-enhancer-binding protein) и некоторых других.
3. На стр.28 сначала используется название протеинкиназа С (латинская буква С), а через три строчки протеинкиназа Ц (Ц русское). Через 4 строки опять ПКС (ПК русскими буквами, а С латинское).

