

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования



«Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова»

д.ф.-м.н., профессор, А.А. Федянин

«20» 04 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультета фундаментальной медицины, кафедры биохимии и регенеративной биомедицины

Диссертация «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация альфа1-адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением» выполнена в лаборатории генных и клеточных технологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования кафедры биохимии и регенеративной биомедицины факультета фундаментальной медицины Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова (ФФМ МГУ).

В период подготовки диссертации соискатель Чечехин Вадим Игоревич работал на кафедре биохимии и регенеративной биомедицины ФФМ МГУ в должности младшего научного сотрудника лаборатории генных и клеточных технологий и обучался в аспирантуре ФФМ МГУ 2020 — 2023 гг.

В 2020 году окончил факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по специальности «Лечебное дело». Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2023 году ФФМ МГУ.

Научный руководитель: Тюрин-Кузьмин Петр Алексеевич, кандидат биологических наук, доцент ФФМ МГУ.

Научный консультант: Ткачук Всеволод Арсеньевич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова.

Результаты диссертационной работы «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация альфа1-адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением» были обсуждены на семинаре кафедры биохимии и регенеративной биомедицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова (протокол №8 от 30.03.2023 г.)

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Чечехина В.И. посвящена изучению свойств мультипотентных мезенхимных стромальных клеток и их участия в развитии артериальной гипертензии, ассоциированной с ожирением.

Актуальность проблемы

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) располагаются периваскулярно в строме большинства органов человека и являются ключевыми регуляторами гомеостаза тканей организма человека. Функциональная активность МСК находится под строгим нейроэндокринным контролем. Периваскулярное расположение клеток, а также близкое расположение к нервным окончаниям позволяет им первыми

воспринимать сигналы эндокринной и нервной систем [Isern et al., 2011]. Воспринимая гормональные стимулы и сигналы нервной системы, МСК, в свою очередь, секретируют множество факторов роста и цитокинов, формируя паракринный фон в ткани. Кроме того, МСК могут дифференцироваться в другие типы клеток, например, адипоциты, остеобласты и гладкомышечные клетки. За счет дифференцировки и секреторной активности эти клетки напрямую участвуют в репарации и регенерации повреждений, а также обновлении тканей [Brown et al., 2019]. Эти функции позволяют изучать и использовать МСК и продуцируемые ими паракринные факторы как новый метод терапии различных заболеваний [Alonso-Goulart et al., 2018; Si et al., 2019; Sabol et al., 2021].

Одним из основных регуляторов функций МСК является норадреналин. В последние годы накапливается все больше информации о влиянии норадреналина на функции МСК. Ранее было показано, что норадреналин способен вызывать в МСК уникальный для клеток взрослого организма феномен гетерологической сенситизации $\alpha 1A$ -адренорецепторов. Данный феномен заключается в β -адренорецептор-зависимом повышении экспрессии функциональных $\alpha 1A$ -адренорецепторов. В связи с этим, при повторном воздействии норадреналина на МСК активируются преимущественно $\alpha 1A$ -адренорецепторы и их сигнальный каскад Gq/ФЛС/ИФ3/ Ca^{2+} . В результате в большем количестве клеток происходит повышение концентрации внутриклеточного кальция по сравнению с контролем [Tyurin-Kuzmin et al., 2016]. Однако физиологическое и медицинское значение данного феномена не выяснено.

Норадреналин является основным нейромедиатором симпатической нервной системы. Для того чтобы вызывать феномен гетерологической сенситизации, необходимо стабильное повышение активности симпатической нервной системы. Одним из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний, сопровождающихся стабильным повышением активности симпатической нервной системы, является ожирение. Повышение активности симпатической нервной системы при ожирении часто является одной из основных причин развития артериальной гипертензии. При этом само ожирение почти всегда приводит к развитию гиперактивации симпатической нервной системы. Но гиперактивация симпатической нервной системы, в свою очередь, не всегда приводит к развитию артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Согласно полученным в диссертации данным, была предложена новая модель механизма развития артериальной гипертензии, ассоциированной с ожирением. Гиперактивация симпатической нервной системы может моделироваться в культуре как предварительное воздействие норадреналина, при котором активируются преимущественно β -адренорецепторы. Это приводит к увеличению количества $\alpha 1A$ -адренорецепторов на перicyтах сосудов жировой ткани пациентов с ожирением. Увеличение количества функционально активных $\alpha 1A$ -адренорецепторов, в свою очередь, вызывает усиление вазоконстрикции при действии норадреналина. Повышенная вазоконстрикция ведет к росту общего периферического сосудистого сопротивления и к развитию артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. В данной работе были исследованы молекулярные механизмы участия МСК и уникального феномена гетерологической сенситизации $\alpha 1A$ -адренорецепторов в развитии артериальной гипертензии у пациентов с ожирением.

Новизна научных результатов

В рамках данной работы впервые проведено исследование участия ЖТ-МСК в развитии артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Установлено, что ЖТ-МСК непосредственно иннервированы окончаниями симпатической нервной системы. Впервые было показано, что ключевой рецептор, через который сосуды воспринимают контрактильные сигналы от симпатической нервной системы, $\alpha 1A$ -адренорецептор, экспрессируется исключительно на перicyтах сосудов жировой ткани, но не на гладкомышечных клетках. Впервые изучен механизм норадреналин-зависимого повышения экспрессии функционально активных $\alpha 1A$ -адренорецепторов и временные характеристики данного феномена. Обнаружено, что механизм норадреналин-зависимого повышения экспрессии $\alpha 1A$ -адренорецепторов зависит от активации сигнального каскада $\beta 3$ -адренорецептор/Gs-

белок/аденилатциклаза/ цАМФ/протеинкиназа А. При этом повышение экспрессии $\alpha 1A$ -адренорецептора сопряжено только с трансляцией белка рецептора, и не связано с изменением уровня мРНК рецептора. Кроме того, было показано, что $\beta 3$ -адренорецепторы в сосудах жировой ткани локализуются на МСК, а не на других сосудистых клетках.

В результате анализа транскриптома одиночных клеток впервые показано, что при двукратном воздействии норадреналина с интервалом в 6 часов ЖТ-МСК переходят в ГМК-подобный фенотип. Изменения транскриптома были подтверждены функциональным тестом на способность МСК к контракции на модели МСК-коллагеновых дисков.

Впервые было продемонстрировано наличие корреляции между способностью МСК к норадреналин-зависимому повышению экспрессии $\alpha 1A$ -адренорецепторов и наличием артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Было установлено, что способность МСК конкретного пациента к сенситизации МСК коррелирует с уровнем артериального давления у пациентов с ожирением. При этом МСК пациентов с ожирением и артериальной гипертензией обладают норадреналин-зависимым механизмом повышения чувствительности к катехоламинам, а пациентов с ожирением без артериальной гипертензии - нет. Кроме того, обнаружены различия в локализации $\alpha 1A$ -адренорецепторов в сосудах жировой ткани пациентов с ожирением. Было показано, что у пациентов с ожирением без артериальной гипертензии $\alpha 1A$ -адренорецепторы локализуются только на МСК, тогда как у пациентов с ожирением и артериальной гипертензией $\alpha 1A$ -адренорецепторы также обнаруживаются на α -SMA экспрессирующих клетках.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные, полученные в этой работе, расширяют и дополняют понимание патологических механизмов развития артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Материалы диссертации показывают возможный механизм участия стволовых клеток в развитии артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Результаты, приведенные в данной работе, могут помочь в разработке новых методов лечения пациентов с ожирением и артериальной гипертензией.

Степень достоверности результатов проведённых исследований

Выводы по результатам диссертационной работы основаны на достоверных результатах, полученных при использовании адекватных моделей. Достоверность результатов экспериментов обусловлена достаточным количеством наблюдений и использованием современных аналитических методов исследования. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием общепринятых методов анализа данных. Интерпретация результатов осуществлялась на основе анализа данных мировой научной литературы по соответствующей тематике. Выводы сделаны на основании достоверных результатов, которые представлены в графиках и таблицах.

Оценка выполненной соискателем работы

По актуальности поставленных задач, методическому и научному уровню исследований, их новизне и практической значимости, диссертационная работа Чечехина Вадима Игоревича является законченной научно-квалификационной работой, которая отвечает п. 9 «Положение о порядке присуждения учёных степеней» (постановления правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемых к диссертацию на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

Личный вклад диссертанта состоит в проведении экспериментов, интерпретации и анализе полученных результатов, написании статей и подготовке докладов. При выполнении диссертационной работы автор культивировал клетки, провёл биоинформатический анализ данных РНК секвенирования одиночных клеток, оценил экспрессию белка альфа1A-адренорецептора, определил сигнальный каскад, ответственный за повышение экспрессии белка альфа1A-адренорецептора, а также проанализировал зависимость способности клеток сенситизироваться к норадреналину от уровня артериального давления пациентов. Также, автор статистически проанализировал все данные, включенные в работу.

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе 10 статей в журналах из перечня ВАК РФ, а также включённых в Базы данных Scopus/Web of Science, 12

тезисов докладов.

Диссертационная работа Чечехина Вадима Игоревича «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация альфа1-адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением» по специальностям 1.5.5 — физиология человека и животных, 1.5.4 - биохимия является научно-квалификационной работой, отвечающей на поставленные цели и задачи. Положения, выносимые на защиту, сформулированы конкретно и научно обоснованы.

Диссертация соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертационная работа «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация альфа1-адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением» Чечехина Вадима Игоревича рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям

1.5.5 — физиология человека и животных,

1.5.4 — биохимия.

Заключение принято на заседании кафедры биохимии и регенеративной биомедицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова. На заседании присутствовало 10 человек. Результаты голосования: «за» - 10 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 8 от 30.03.2023

Заведующий кафедрой биохимии и регенеративной биомедицины
ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова,
д.б.н., академик РАН



Ткачук В.А.

Секретарь заседания
к.б.н.

Кулебякин К.Ю.