

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента Ельчанинова Андрея Владимировича на диссертационную работу Чечехина Вадима Игоревича «Регуляция мультипотентных мезенхимных стромальных клеток катехоламинами: сенситизация  $\alpha 1$ -адренорецепторов, управление фенотипом, возможное участие в развитии артериальной гипертензии, вызванной ожирением», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 1.5.5 — Физиология человека и животных, 1.5.4. — Биохимия.

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Ожирение представляет собой одну из так называемых патологий цивилизации, в связи с этим является важной проблемой для современной медицины. Известно, что ожирение является фактором риска для развития различных заболеваний, включая сахарный диабет 2 типа, атеросклероз и артериальную гипертензию. Примерно 70% случаев артериальной гипертензии связывают с ожирением. Молекулярные механизмы развития артериальной гипертензии, связанной с ожирением, которым посвящена данная работа, до сих пор мало изучены.

Таким образом, исследование В.И. Чечехина, направленное на понимание молекулярных механизмов развития артериальной гипертензии, является актуальным вкладом в современную науку.

**Научная новизна исследования.** В рамках данного исследования впервые проанализировано участие мультипотентных стромальных клеток (МСК) в развитии артериальной гипертензии, связанной с ожирением. Впервые получены следующие данные. Показано, что МСК в сосудах жировой ткани иннервированы волокнами симпатической нервной системы. Исследован механизм повышения чувствительности МСК к норадреналину,

ИМБП ВХ. № 08/246  
от "29" 01 2024 г.

который зависит от норадреналина. Выявлено, что увеличение чувствительности МСК к норадреналину связано с активацией  $\beta 3$ -адренорецепторов и сигнального каскада Gs/аденилатциклаза/цАМФ/протеинкиназа А, что приводит к увеличению экспрессии  $\alpha 1A$ -адренорецепторов на уровне белка. Установлено, что  $\alpha 1A$ - и  $\beta 3$ -адренорецепторы в сосудах жировой ткани локализуются именно на МСК. Под воздействием норадреналина МСК, обладающие повышенной чувствительностью к нему, приобретают ГМК-подобный фенотип.

Автор также продемонстрировал возможную связь между способностью МСК к норадреналин-зависимому повышению чувствительности к норадреналину и наличием артериальной гипертензии у пациентов с ожирением. Установлено, что МСК у пациентов с ожирением и артериальной гипертензией проявляют механизм повышения чувствительности к катехоламинам, зависимый от норадреналина, в отличие от МСК пациентов с ожирением без артериальной гипертензии. Также обнаружено, что у пациентов с ожирением без артериальной гипертензии  $\alpha 1A$ -адренорецепторы локализуются только на МСК, тогда как у пациентов с ожирением и артериальной гипертензией они также присутствуют на  $\alpha$ -SMA экспрессирующих клетках.

**Полнота изложения основных результатов в научных статьях.** По теме диссертации опубликовано 8 статей в журналах, индексируемых в SCOPUS, WOS и RSCI.

**Обоснованность используемых методов исследования.** Данная диссертационная работа выполнена с применением современных и актуальных методов исследования. В ходе работы были задействованы методы иммуногистохимического анализа экспрессии  $\alpha 1$ -адренорецепторов, изоляции и культивирования мультипотентных стромальных клеток (МСК),

ингибиторного анализа, а также микроскопического прижизненного анализа уровня внутриклеточного кальция. Экспрессия  $\alpha 1A$ -адренорецепторов была оценена с использованием методов ПЦР в реальном времени и иммуноблотинга. В работе также использовались современные биоинформатические методы для анализа транскриптома одиночных клеток. Также, в работе применялась модель контракции МСК, которая позволила проанализировать воздействие норадреналина на контрактильность клеток. Выбранные методы исследования адекватны поставленным задачам.

**Достоверность результатов и обоснованность выводов исследования** обеспечена тщательным выбором методов, достаточной экспериментальной выборкой, проведением экспериментов и правильным подбором соответствующих контролей. В рамках работы выполнен адекватный статистический анализ полученных данных и осуществлен обширный анализ литературы. На основе проведенной работы были сделаны выводы, которые непосредственно вытекают из полученных данных и точно соответствуют поставленным задачам.

### **Общая характеристика диссертации**

Диссертационная работа изложена на 117 страницах. Диссертация написана в традиционном стиле и включает следующие разделы: Введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и «Выводы». Список использованной литературы содержит библиографические данные о 217 публикациях зарубежных и отечественных авторов. Введение содержит все необходимые разделы (Актуальность, Цели и задачи, Научная новизна, Теоретическая и практическая значимость, Личный вклад, Методология и методы исследования, Положения, выносимые на защиту, Степень достоверности и др.). Диссертационная работа хорошо иллюстрирована, содержит 29 рисунков и микрофотографий, 6 таблиц.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

**Степень обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Диссертационная работа Чечехина В.И. представляет собой полноценное завершённое исследование, расширяющее понимание патологических механизмов развития артериальной гипертензии, ассоциированной с ожирением. Материалы диссертации подробно раскрывают роль мультипотентных стромальных клеток в процессе развития артериальной гипертензии, связанной с ожирением. Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе, является достаточной. Выводы логично сформулированы, исходя из полученных экспериментальных данных.

Понимание механизмов развития артериальной гипертензии у пациентов с ожирением представляет собой перспективное направление исследований в современной медицине. Данные о роли норадреналина в регуляции активности МСК могут быть использованы для создания новых лекарственных препаратов, направленных на новые терапевтические мишени.

**Замечания и вопросы**

При ознакомлении с работой возник ряд вопросов и комментариев.

1. В названии указано, что изучается регуляция МСК катехоламинами, по сути, из них изучено влияние только норадреналина.
2. В разделе материалов и методов автор приводит методы статистического анализа. Автор использовал ранговый дисперсионный анализ, однако post-hoc-тесты для попарного сравнения не указаны.

3. В результатах исследования диссертант приводит данные вестерн-блот анализа и фотографии мембран. Однако в них отсутствуют маркеры массы. Кроме того, учитывая, что в рисунках использованы фрагменты мембран, то необходимо приводить целую мембрану в приложении к тексту диссертации.
4. Автор приводят данные анализа транскриптома единичных клеток, при этом указано, что экспрессия того или иного гена повышена в определенное число раз. Не совсем ясно, как эти данные были получены. В некоторых случаях указано, что экспрессия гена выше, например, в 1,24 или 1,28 раз. Задавали ли автор какой-либо порог значимости для экспрессии, например, обычно используют 1,5 или 2?
5. Диссертант указывает, что в качестве маркера МСК он использовал белок PDGFR $\beta$ . Однако данный белок обнаружен у многих клеток мезенхимального происхождения, в том числе гладких миоцитов, эндотелиоцитов, фибробластов. В связи с этим, на мой взгляд, надо осторожнее использовать терминологию и не ставить знак равенства между МСК и PDGFR $\beta$ +клетками.
6. Примерно те же соображения можно привести и относительно использования автором термина перицит. Всегда ли между перицитом и МСК можно ставить знак равенства? Автор часто это делает.
7. С точки зрения отечественной номенклатуры кроме эндотелиоцитов и перицитов в капилляре содержатся адвентициальные клетки, которым и приписывают свойства прогениторной клетки всей линии механоцитов соединительных тканей. За перицитами оставляют функцию регуляции просвета капилляров. С другой стороны, в англоязычной литературе термин «перицит» объединяет все клетки, расположенные в капилляре

кнаружи от эндотелиоцита. Какие же все-таки клетки имеет в виду автор?

8. На микрофотографиях автор приводит локализацию тех или иных маркерных белков в клетках сосудистой стенки. Однако не приводит название этих сосудов, что было бы правильно. Судя по микрофотографиям, иногда это капилляры, а иногда сосуды более крупного калибра. При этом диссертант по отношению даже к крупным сосудам использует термин «перицит». В соответствии с классическими гистологическими представлениями перицит – это клетка стенки капилляра и посткапиллярной вены. Что за клетки имеет в виду автор, говоря о клетке стенки крупных сосудов?
9. Автор получил данные, свидетельствующие о том, что норадреналин повышал уровень  $\alpha 1A$ -адренорецепторов путем активации сигнального каскада  $\beta 3$ -АР/АЦ/цАМФ/ПКА и трансляции белка рецептора и не влияет на транскрипцию мРНК. Какой механизм предполагает автор: в клетке есть запасы мРНК, одна мРНК используется несколькими рибосомами?

Высказанные комментарии и замечания носят дискуссионный характер и не снижают высокой научной ценности представленной диссертационной работы.

### **Заключение**

По актуальности темы исследования, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости и достоверности полученных результатов диссертация Чечехина Вадима Игоревича соответствует требованиям пп.9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.5 — Физиология человека и животных, 1.5.4 — Биохимия, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.5 — Физиология человека и животных, 1.5.4 — Биохимия.

Доктор медицинских наук (по специальности 03.03.04 (1.5.22.) – гистология, цитология, клеточная биология, медицинские науки)

Заведующий лабораторией роста и развития НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНИЦХ имени акад. Б.В. Петровского»

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3  
8(916)888-52-92,

elchandrey@yandex.ru

24.01.2024г.

Ельчанинов  
Владимирович

Андрей

Подпись д.м.н. Ельчанинова А.В. заверяю:  
Ученый секретарь  
ФГБНУ «РНИЦХ имени акад. Б.В. Петровского»,

д.м.н., доцент



Михайлова Анна Андреевна