

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук Тюрина-Кузьмина Петра Алексеевича
на тему: «Адренергическая регуляция постнатальных мультипотентных
мезенхимных стромальных клеток человека: сенситизация рецепторов,
активация стволовых клеток и управление их дифференцировкой»
по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»**

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются объектом повышенного интереса и изучения во многих лабораториях всего мира. Основные свойства этих тканеспецифичных мультипотентных клеток взрослого организма, а именно способность как к пролиферации/самообновлению, так и к дифференцировке в нескольких направлениях, являются весьма перспективными для целей регенеративной медицины и возможной коррекции гомеостаза тканей при определенных патологиях. Очевидно, что исследования механизмов функционирования МСК и регуляции их программ, чему и посвящена диссертационная работа Петра Алексеевича, является чрезвычайно актуальной задачей как с фундаментальной, так и практической точек зрения. Следует подчеркнуть, что если механизмы самообновления достаточно изучены, то процесс перехода МСК к выбору пути дифференцировки, т.е. механизмы собственно мультипотентности, остаются малопонятны.

Наряду с перечисленными общими свойствами МСК, исследователи отмечают такую их характеристику, как высокую степень гетерогенности клеток МСК, выделяемых из одного источника, что является существенным препятствием для выявления общих механизмов. Поэтому анализ процессов, происходящих в одиночных клетках и событиях, стимулируемых внешними агонистами, имеет серьезные преимущества по сравнению с попытками анализа на уровне целой популяции. Набор молекулярно-, клеточно-биологических, биохимических и биоинформационных методов, использованный в работе, соответствует самому современному уровню и позволил автору прийти к значимым обобщениям с высокой степенью новизны, сформулировать достаточно стройную концепцию.

На основе проведенного анализа диссертант приходит к выводу, что реализация дифференцировочной программы МСК из жировой ткани проходит в 2 этапа: на первом этапе активации МСК переходят в особое обратимое функциональное состояние, в котором клетка готова воспринимать сигнал, направляющий ее в дифференцировку, или инициированным состоянием. В нем клетки демонстрировали измененную восприимчивость к адренергическим гормональным стимулам, а именно сниженной чувствительностью к агонистам β -АР, которые являются ключевыми сенсорами катехоламинов в базальном состоянии, но

существенно сенситизировались к $\alpha 1$ -агонистам. В результате в таком состоянии МСК на определенное время повышали свою чувствительность к норадреналину, а активируемые сигнальные каскады переключались с цАМФ-зависимых на Ca^{2+} -зависимые. Автор отмечает определенную аналогию с эмбриональным развитием и характеризует сигналы, переводящие МСК в инициированное состояние как пермиссивные. Лишь находясь в инициированном состоянии, МСК могли воспринимать инструктивный сигнал, который, собственно, и определял итоговое направление дифференцировки в адипогенном, контрактильном или фиброзном направлении. Пермиссивное состояние, как оказалось, является обратимым, и без получения инструктивного сигнала МСК возвращалась в базальное состояние с. Инструктивным сигналом для контрактильной дифференцировки являлась $\alpha 1\text{A-AP}$ -зависимая мобилизация кальция, определяемая в работе по тотальному повышению флуоресценции красителя Fluo-8 AM в цитоплазме респонсивных клеток. Весьма важной является часть диссертации, посвященная механизму коммитирования клеток в направлении такой дифференцировки и схеме воздействия инсулином – в зависимости от порядка и длительности активации $\beta 3\text{-AP}$ и $\alpha 1\text{A-AP}$ с последующей стимуляцией инсулином, МСК коммитировались не в белые, а в бежевые адипоциты. На основании этих, а также других экспериментов, П.А.Тюрин-Кузьмин выдвинули интересную гипотезу развития артериальной гипертензии, ассоциированной с ожирением.

В качестве замечания хотелось бы заметить, что отсутствие опустошения внутриклеточных депо и/или открытия кальциевых каналов плазматической мембраны, что, собственно, и фиксировалось в данной работе с помощью цитоплазматического красителя, не эквивалентно отсутствию кальциевой сигнализации как таковой, поскольку, кроме тотальных, как в случае действия норадреналина, существуют и более тонкие локальные кальций-зависимые процессы, не определяемые Fluo8-AM. Вообще в тексте употребление термина «кальциевая сигнализация» носит несколько жаргонный характер (Например, стр. 10 «Для выяснения дифференцировочного потенциала клеток, отвечающих кальцием на норадреналин...»).

Основным выводом, обобщающим результаты проделанной работы, является то, что для выбора направления дифференцировки МСК существенен не только определенный гормональный стимул или их комбинация, сколько последовательность таких воздействий, в ходе которых МСК претерпевают последовательные функциональные изменения. Хотя автор всюду упоминал МСК жировой ткани без указания на их источник, в то время как тканеспецифичность подразумевает наличие достаточно разнообразных в каждом случае наборов гормональных и ростовых стимулов, на основе существующих собственных и результатов и данных

литературы можно предполагать, что сама «идеология» выбора пути через несколько состояний, возможно, является универсальной для всех типов МСК. Тем не менее, возникает следующий вопрос. Гетерогенность тотального кальциевого ответа на норадреналин (и последующей дифференцировки) выявляется уже сразу на первых пассажах МСК после их выделения из ткани. Как автор рассматривает природу этой гетерогенности, исходя из сформулированной им гипотезы: клетки праймируются уже в процессе выделения с последующим выбором пути дифференцировки в зависимости от набора и последовательности действующих стимулов, или гетерогенность присутствует еще в покоящихся МСК? Как оценивается влияние процесса изоляции МСК из ткани на последующие события? Вопрос имеет дискуссионный характер и не влияет на общую высокую оценку всего исследования. На мой взгляд, это действительно докторская диссертация, в ходе выполнения которой сформулированы новые концепции, касающиеся важных аспектов функционирования МСК.

Судя по автореферату, диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, а соискатель Тюрин-Кузьмин Петр Алексеевич вполне заслуживает присуждения искомой степени.

20.05.2024

Контактные данные:

Корнилова Елена Сергеевна

Должность, звание: , гл. науч. сотрудник

зав. Отделом внутриклеточной сигнализации и транспорта ИНЦ РАН,
профессор, д.б.н.

Место работы и адрес работы: ФБГУН Институт цитологии РАН,
194064, Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург