

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента о 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»**

### **Актуальность темы работы.**

Диссертационная работа П.А. Тюрина-Кузьмина направлена на решение актуальной проблемы – понимание механизмов обновления клеточного состава тканей в организме взрослого человека с участием мезенхимных стромальных клеток (МСК). МСК представляют собой мультипотентные стволовые клетки, способные дифференцироваться в различных направлениях, как в ходе эмбрионального развития, так и в постнатальном онтогенезе. Очевидно, что глобальные изменения, происходящие в тканях организма после рождения и при взрослении (повышение доступности кислорода, изменение активности тканевых регуляторов, а также внешних нейрогуморальных влияний, в том числе симпатoadреналовой системы) не могут не сказываться на функционировании МСК. Выбранный МСК путь дифференцировки может определять состояние организма в целом, поэтому управление дифференцировкой МСК является перспективным подходом к профилактике и лечению социально значимых заболеваний человека. Очевидно, что управление сложными процессами невозможно без понимания принципов их организации, а вот фундаментальные механизмы, регулирующие дифференцировку МСК во взрослом организме, в настоящее время практически не изучены. На заполнение этого пробела в современной системе знаний и направлена диссертационная работа П.А. Тюрина-Кузьмина. Тематика работы полностью соответствует паспорту специальности «Физиология человека и животных», прежде всего в связи с развитием

представлений об адаптационного-трофическом влиянии симпатoadреналовой системы на клетки и органы, в данном случае – на МСК жировой ткани человека.

### **Структура и объем диссертационной работы.**

Диссертация изложена на 305 страницах и включает все необходимые разделы: введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования» и «Результаты и обсуждение», заключение и выводы. Список литературы включает 253 источника. Многочисленные рисунки удачно иллюстрируют полученные результаты, а также содержат обобщающие схемы. Кроме того, в работе имеются 8 приложений, в которых представлены сведения о донорах биоматериала, а также оригинальные изображения обработанных антителами срезов ткани и мембран. Работа написана хорошим научным и вместе с тем очень понятным языком, как может сделать только человек, глубоко погруженный в проблему, свободно владеющий ей и вместе с тем искренне желающий и умеющий доносить свои мысли до коллег.

Введение построено по традиционному плану и содержит все необходимые подразделы, из которых хочу особо отметить удачно сформулированные цель и семь задач работы, а также четыре положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы автору удалось достаточно полно раскрыть основные аспекты функционирования стволовых клеток, избежав ненужного наукообразия и излишней детализации, а также обозначить белые пятна в этой научной проблеме.

Работа поражает мощным методическим арсеналом: для решения физиологической проблемы были использованы современные методы молекулярной биологии, микробиологии, биохимии, клеточной биологии и гистологии, классические физиологические методики работы с животными, а также работа с материалом, полученным от разных групп пациентов. Особо хочу отметить проведенный в работе анализ транскриптома одиночных клеток и сопутствующий ему биоинформатический анализ, а также оригинальные

методики, разработанные автором, среди которых наблюдение за дифференцировкой одиночных МСК в реальном времени, сортировка МСК по их способности отвечать повышением кальция в ответ на адренергическую стимуляцию (непосредственно в клеточном сортере), локальная десимпатизация одного из парных жировых депо у мышей.

Глава «Результаты и обсуждение» включает шесть частей, в которых автор последовательно прослеживает переходы МСК между различными функциональными состояниями: сначала документирует их гетерогенность, затем описывает процесс перехода МСК в особое инициированное состояние, связь этого состояния с пролиферацией МСК, механизмы инициации, а затем – механизмы реализации инструктивных сигналов, направляющих МСК в сократительный фенотип или же к образованию белых или бурых адипоцитов.

В заключении автор подводит итог полученным данным и формулирует разработанную им модель ранних этапов выбора направления дифференцировки МСК, которая информативно иллюстрирована схемой. Венчают работу семь удачно сформулированных выводов.

**Достоверность и обоснованность сформулированных в диссертации научных положений, выводов и рекомендаций, их новизна.**

Достоверность и обоснованность полученных данных не вызывает сомнения. Поставленные задачи полностью соответствуют цели исследования. Для решения задач были выбраны адекватные методы, подробно описанные в тексте диссертации. Объем проведенных экспериментов достаточен для получения статистически достоверных результатов. Полученные автором экспериментальные данные хорошо документированы и проиллюстрированы в работе. Результаты, полученные с использованием различных методических подходов, удачно дополняют друг друга и обеспечивают формирование целостной картины превращений и функционирования МСК в жировой ткани взрослого человека. Выводы полностью отражают суть работы. Выносимые на защиту положения также полностью обоснованы.

Диссертационную работу П.А. Тюрина-Кузьмина можно квалифицировать как научное достижение в области фундаментальной физиологии: на основании выполненных исследований автором решена важная научная проблема – впервые раскрыты нейрогормональные механизмы управления дифференцировкой МСК в постнатальном онтогенезе. В работе впервые доказано существование особого инициированного состояния, в которое приходят ранее покоящиеся МСК под действием адренергической стимуляции, впервые установлены инструктивные стимулы, а также последовательности, в которых они должны предъявляться, чтобы МСК выбрала тот или иной путь дифференцировки. Результаты работы необходимы для понимания процессов регенерации и обновления клеточного состава тканей в организме взрослого человека и создания наукоемких подходов к сохранению здоровья и повышению качества жизни людей.

Необходимо отметить высокий уровень публикаций по теме диссертации, что свидетельствует о признании результатов работы научной общественностью. Материалы диссертации достаточно полно отражены в 47 работах (из них 34 статьи в международных рецензируемых журналах, входящих в базы данных Scopus, Web of Science и RSCI), они неоднократно представлялись и обсуждались на научных конференциях в России и за рубежом.

Автореферат дает достаточно полное представление о диссертационной работе и оформлен надлежащим образом.

#### **Замечания к диссертационной работе.**

Принципиальных замечаний к диссертационной работе П.А. Тюрина-Кузьмина у меня нет. В качестве замечаний «второго порядка» можно отметить следующие.

- 1) В работе есть некоторое количество опечаток, хотя хочу отметить, что здесь они значительно более редкие, чем в большинстве диссертационных работ. При чтении текста местами возникало желание разделить слишком длинный абзац на более короткие.

2) В ряде случаев вместо термина «гормон» лучше использовать «агонист» или «нейромедиатор» (когда речь идет о таких веществах как дофамин, ГАМК или глутамат – раздел 3.1.4. и в некоторых других местах).

3) Фармакологические инструменты в целом выбраны адекватно, пожалуй, за исключением одного момента. При исследовании механизмов инициации МСК автор проводил стимуляцию МСК добутамином, хотя в данном случае был бы более уместным изопротеренол, гарантированно активирующий все три типа бета-адренорецепторов. Справедливости ради надо отметить, что в одной из следующих глав автор обсуждает вопрос о возможном влиянии добутамина на другие типы бета-адренорецепторов, кроме бета<sub>1</sub>, но хотелось бы видеть это обсуждение раньше (на странице 169 вместо 206).

4) В таблице 4 (стр. 202 - характеристика пациентов) следовало бы привести значения артериального давления, как это сделано в опубликованной по этим данным статье.

#### **Вопросы к диссертационной работе.**

1) Автор показал, что МСК сильно гетерогенны по чувствительности к кальций-мобилизирующим агентам: на каждый из использованных агонистов отвечала лишь сравнительно небольшая доля клеток (раздел 3.1.4). Вопрос: насколько воспроизводимы кальциевые ответы в одиночных клетках: если подействовать одним и тем же агонистом несколько раз, ответят одни и те же или разные клетки?

2) В работе показано, что для перехода МСК в иницированное состояние необходимо влияние катехоламинов через бета<sub>3</sub>-адренорецепторы. Известно, что в кардиомиоцитах, а также в адипоцитах (Withers et al. 2017, doi: 10.1038/srep44571) стимуляция этих рецепторов иницирует синтез NO, который может регулировать дифференцировку клеток (гладкомышечных клеток сосудов – Lincoln et al. 2006, doi: 10.2741/1803), а также синтез белков в адипоцитах (бурой жировой ткани – Petrović et al. 2010, doi: 10.1016/j.cbpc.2010.03.008). Может ли влияние NO вносить вклад в инициацию МСК?

3) Все-таки, сходны или различаются механизмы, регулирующие дифференцировку МСК в эмбриогенезе и во взрослом возрасте? В работе этот вопрос обсуждается только применительно к механизмам инициации МСК (раздел 3.4.6), а что можно сказать в отношении инструктивных стимулов?

4) По мнению автора, с которым я полностью согласна, результаты работы важны для создания «терапевтических подходов к лечению ряда широко распространенных метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний, нормализации метаболического статуса современного человека». Хочу попросить автора по возможности конкретизировать это положение: какой образ жизни должен вести современный человек, чтобы МСК его жировой ткани выбирали «правильный» путь дифференцировки.

Следует отметить, что приведенные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Вопросы также носят дискуссионный характер.

#### **Заключение.**

Диссертационная работа П.А. Тюрина-Кузьмина несомненно является современным, актуальным, законченным исследованием, которое вносит значительный вклад в понимание механизмов обновления тканей в организме взрослого человека с участием МСК. Работа полностью отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» (биологические науки), а именно следующим ее направлениям: «Изучение закономерностей и механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма человека и животных; механизмов функционирования клеток, тканей, органов, принципов их системной организации», «Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических процессов и функций человека и животных», а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5, и оформлена, согласно приложениям

№ 5, 6 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. Таким образом, соискатель Тюрин-Кузьмин Петр Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

Дата: 13.05.2024

/Тарасова О.С./