

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Турищевой Екатерины Павловны**  
**на тему: «Влияние растительных гормонов на дифференцировку**  
**культивируемых дермальных фибробластов человека»**  
**по специальности 1.5.22 – «Клеточная биология»**

**Актуальность избранной темы**

Нарушение регуляции секреторно-синтетической активности, вызванное изменением дифференцировочного статуса клеток или изменением количества дифференцированных клеток, может приводить к развитию патологических состояний, таких как фиброз, снижение регенеративного потенциала, диабет II-го типа, остеопороз и многим другим. В частности, избыточная дифференцировка фибробластов в миофибробласты вызывает фиброз, характеризующийся повышенной продукцией внеклеточного матрикса, а пониженная активность миофибробластов и/или их недостаточное количество приводит к подавлению регенеративных процессов и развитию хронических ран. Фибротизирующие заболевания чрезвычайно распространены во всём мире, и по современным наблюдениям могут обуславливать до 50% летальных исходов во всём мире, а хронические раны могут снижать качество жизни так же сильно, как болезни сердца и почек, однако проблема терапии как фиброза, так и хронических ран остается до сих пор не разрешенной. В связи с этим поиск новых мишеней и разработка новых подходов, способных нормализовать секреторную активность фибробластов и оказывать влияние на уровень их дифференцировки, является, вне всяких сомнений, актуальной задачей. К таким потенциальным мишеням относится, в частности, сигнальный каскад, носящий название «ответ на неправильно свёрнутые белки», или UPR, активность которого необходима для дифференцировки фибробластов в миофибробласты. Поэтому перспективным представляется поиск регуляторов, способных нормализовать секреторную



активность фибробластов и оказывать влияние на их дифференцировочный статус, через воздействие на участников UPR.

Такими потенциальными регуляторами могут быть фитогормоны - сигнальные молекулы, производимые растениями и регулирующие их рост, дифференцировку и устойчивость к стрессовым факторам. Показано, что фитогормоны абсцизовая кислота (АБК) и гиббереллиновая кислота (ГК) способны влиять на секреторно-синтетическую активность разных типов клеток млекопитающих. Кроме того, ГК способна активировать UPR и дифференцировку в нормальных и опухолевых клетках эпидермоидного происхождения. Это даёт основание полагать, что АБК и ГК могут стать агентами коррекции секреторно-синтетической активности и дифференцировочного статуса фибробластов. Исследование влияния фитогормонов АБК и ГК на секреторно-синтетическую активность и признаки дифференцировки дермальных фибробластов и является целью представленной диссертации.

### **Научная новизна**

В результате проведенных исследований была впервые показана способность фитогормонов АБК и ГК активировать UPR в дермальных фибробластах человека, а также впервые изучена способность АБК вызывать UPR в клетках человека. Кроме того, были детально проанализированы морфологические изменения биосинтетической системы и компонентов цитоскелета, задействованных в работе биосинтетической системы, в клетках человека в условиях UPR, и показано, что UPR, вызываемый АБК, ГК и каноническим индуктором стресса ЭПР дитиотреитолом в дермальных фибробластах, сопровождается разными морфологическими изменениями. Было обнаружено, что UPR, вызываемый АБК и ГК, имеет разное происхождение и разный сигналинг, а также оказывает противоположное действие на дифференцировочный статус фибробластов: АБК стимулирует дифференцировку фибробластов в миофибробласты, а ГК снижает уровень синтеза маркера миофибробластов гладкомышечного актина  $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA).



Также впервые показано, что АБК и ГК являются модуляторами секреторно-синтетической активности фибробластов, причём оказывают на неё противоположное влияние: АБК – стимулирующее, а ГК – подавляющее.

### **Научная и практическая значимость**

Полученные в данной работе результаты расширяют знания о влиянии фитогормонов АБК и ГК на клетки человека соединительнотканного происхождения и важны для понимания механизмов развития UPR и его многообразия, а также для регулирования и тонкой настройки этого процесса при использовании UPR в качестве мишени при разработке лекарственных препаратов. Большое практическое значение имеют полученные данные о противоположном влиянии АБК и ГК на дифференцировку фибробластов, так как стимулирующее влияние АБК может быть использовано при разработке препаратов для ускорения заживления ран и лечения хронических ран, а ингибирующее влияние ГК может рассматриваться в перспективе при поиске способов предотвращения и лечения фиброза и, в частности, образования рубцов.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Представленная научная работа является правильно спланированной и грамотно выполненной. Полученные результаты являются достоверными и воспроизводимыми, их статистическая обработка проведена с использованием адекватного пакета инструментов и соответствующих статистических методов. Представляемые к защите научные положения обоснованы. Выводы из диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и научным положениям.

Материалы диссертационной работы опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук, и представлены на 5 научных конференциях. Автореферат в сжатом виде отражает ключевые разделы диссертации.



## Структура диссертации

Структура диссертационной работы упорядочена, направлена на достижение поставленных целей и задач исследования. Диссертация построена по стандартному образцу и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы, Публикации по теме работы и Список литературы. Материал изложен последовательно и обстоятельно. Текст диссертации соответствует установленным правилам научного цитирования, библиографические ссылки оформлены в соответствии с требованиями ГОСТ.

В Обзоре литературы подробно разобрано явление UPR и его роль в регуляции дифференцировки фибробластов, а также подробно изложены и систематизированы современные данные о разностороннем влиянии АБК и ГК на клетки млекопитающих. Хотелось бы отметить, что обзор литературы хорошо систематизирован и даёт полное представление о роли и актуальности исследования влияния фитогормонов на клетки человека.

Раздел Материалы и методы содержит исчерпывающее описание методических подходов. В работе используется широкий спектр методов клеточной и молекулярной биологии.

Раздел Результаты содержит 16 подразделов. Полученные результаты подробно изложены и хорошо проиллюстрированы. Автор работы показал, что в дермальных фибробластах АБК и ГК индуцируют UPR, различающийся по паттернам активации генов маркеров этого сигнального каскада. Было проведено сравнение морфологических изменений биосинтетической системы и компонентов цитоскелета, задействованных в работе биосинтетической системы, в условиях UPR, вызванного АБК, ГК, а также каноническим индуктором стресса ЭПР дитиотреитолом. Далее разными методами было изучено влияние АБК и ГК на биосинтетическую активность фибробластов и обнаружено, что данные фитогормоны оказывают на неё противоположное влияние: АБК – стимулирующее, а ГК – подавляющее. Наконец, был проведен анализ влияния АБК и ГК на синтез маркера дифференцировки фибробластов



в миофибробласты – гладкомышечного актина  $\alpha$  и обнаружено, что воздействие фитогормонов на дифференцировочный статус фибробластов также противоположное: у АБК – стимулирующее, а у ГК – подавляющее.

В разделе Обсуждение дано исчерпывающее обсуждение полученных результатов.

### **Замечания и вопросы**

При общей высокой оценке диссертационной работы Е.П. Турищевой к диссертации имеются следующие замечания и вопросы:

1. В тексте часто встречается термин «стресс ЭПР (UPR)», из которого можно предположить, что автор ставит знак равенства между «стрессом ЭПР» и «ответом на неправильно свернутые белки». Правомерно ли это?
2. Какие еще известны молекулярные мишени фитогормонов помимо UPR?
3. Предположите, какие эффекты можно было бы наблюдать, если бы Вы предварительно индуцировали миодифференцировку, а потом добавили фитогормоны?
4. Стр. 83. Можно ли утверждать, что проколлаген I – наиболее распространенный компонент ВКМ? Это скорее будущий коллаген I, который, действительно, самый распространенный компонент.
5. Рис. 20 и 21. Секреция практически не изменялась, а содержание существенно возрастало? Как это можно интерпретировать?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Е.П. Турищевой «Влияние растительных гормонов на дифференцировку культивируемых дермальных фибробластов человека» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.22 – «Клеточная биология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно требованиям 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 Турищева Екатерина Павловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – «Клеточная биология».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Государственного научного центра Российской Федерации  
Института медико-биологических проблем Российской академии наук

Андреева Елена Ромуальдовна

01.11.2023

Контактные данные: тел.: +7 (499) 195-63-01, e-mail: andreeva\_er@mail.ru

Специальности, по которым официальным оппонентом защищена диссертация:

03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

03.03.01 – «Физиология»

Адрес места работы:

123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Государственный научный центр Российской Федерации  
Институт медико-биологических проблем Российской академии наук,  
лаборатория клеточной физиологии  
Тел.: 8(499)195-63-01; e-mail: andreeva\_er@mail.ru

Подпись сотрудника ГНЦ РФ – ИМБП РАН  
Андреевой Е.Р. удостоверяю  
вед.н.с., д.б.н. зав. отд. ученый секретарь Института



01.11.2023

М.А. Левинских