

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 исследования

Дифференцировка является ключевым событием, необходимым для образования специализированных клеток, тканей и органов многоклеточного организма, для регенерации, самоподдержания обновляющихся тканей и целого ряда других процессов. Изучение процесса дифференцировки клеток, начинающегося в эмбриогенезе и продолжающегося во взрослом организме, несомненно, остаётся актуальным на сегодняшний день. Нарушение регуляции клеточной дифференцировки на любом уровне может привести к развитию различного рода патологических состояний, например, фиброза, снижению регенеративного потенциала, развитию хронических ран, диабету II-го типа, остеопорозу. Для нормального функционирования органов и тканей, необходимо поддержание на оптимальном уровне секреторно-синтетических процессов у дифференцированных клеток с повышенной биосинтетической активностью. Работа Е.П. Турищевой посвящена исследованию влияния растительных гормонов абсцизовой кислоты (АБК) и гиббереллиновой кислоты (ГК) на секреторно-синтетическую активность и дифференцировку культивируемых дермальных фибробластов человека в миофибробласты. Разработка новых подходов, способных нормализовать секреторную активность клеток и оказывать влияние на уровень их дифференцировки за счёт воздействия на клетки на молекулярном уровне, может оказаться перспективным направлением для решения проблем, связанных с терапией многих патологий.

Структура и объём диссертации

Диссертация Е.П. Турищевой содержит следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы и Список литературы. Объём диссертации 148 страниц. Диссертация содержит 23 рисунка и 1 таблицу. Список литературы включает 230 источников.

Обзор литературы представлен на 37 страницах. В обзоре литературы автор даёт представление о фиброзе, проблеме снижения регенеративного потенциала, роли ЭПР, проводит анализ современных данных о роли сигнальных путей в функционировании ЭПР и их активации в процессе дифференцировки фибробластов. В конце обзора дано Заключение, в котором на основании проанализированной литературы подтверждается актуальность выбранных объектов и темы исследования.

Перечень использованных в работе методических приёмов довольно разнообразен. В работе применены методы клеточной биологии, биохимии и молекулярной биологии, такие, как МТТ-тест, ПЦР в реальном времени, флуоресцентная микроскопия, иммуноцитохимия и цитохимия, трансмиссионная электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ, вестерн-блоттинг, колориметрический полуколичественный анализ общей продукции коллагеновых и неколлагеновых белков внеклеточного матрикса.

Основные результаты работы

Целью диссертационной работы Турищевой Е.П. является изучение влияния растительных гормонов АБК и ГК на секреторно-синтетическую активность и признаки дифференцировки культивируемых дермальных фибробластов человека в миофибробласты. В своей работе автору удалось показать, что растительные гормоны АБК и ГК способны активировать стресс эндоплазматического ретикулума в клетках человека, однако, паттерны активации изученных генов у АБК и ГК различны. АБК и ГК оказывают влияние на секреторно-синтетическую активность и дифференцировочный статус дермальных фибробластов, но их действие носит противоположный характер. С помощью классических методов

клеточной и молекулярной биологии показано, что АБК и ГК вызывают активацию «ответа на неправильно свёрнутые белки» (UPR) в дермальных фибробластах человека. Индукция UPR в присутствии АБК стимулирует дифференцировку дермальных фибробластов в миофибробласты, повышая их секреторно-синтетическую активность и увеличивая долю миофибробластов в клеточной популяции. Индукция UPR в присутствии ГК вызывает противоположный эффект.

Научная новизна и научно-практическая значимость работы

Автором впервые показана способность фитогормонов АБК и ГК активировать стресс ЭПР (UPR) в дермальных фибробластах человека. Впервые изучена способность АБК вызывать стресс ЭПР (UPR) в клетках человека. Впервые детально проанализированы морфологические изменения биосинтетической системы и компонентов цитоскелета, задействованных в работе биосинтетической системы в клетках человека в условиях стресса ЭПР (UPR). Показано, что UPR, вызываемый АБК и ГК и индуктором стресса ЭПР дитиотреитола (ДТТ) в дермальных фибробластах, сопровождается различными морфологическими изменениями. Впервые обнаружено, что UPR, вызываемый АБК и ГК, имеет разное происхождение и разный сигналинг, а также оказывает противоположное действие на дифференцировочный статус фибробластов. Кроме того, впервые показано, что АБК и ГК являются модуляторами секреторно-синтетической активности фибробластов, причём оказывают на неё противоположное влияние: АБК – стимулирующее, а ГК – подавляющее.

Достоверность и обоснованность сделанных выводов

Работа проводилась с использованием разнообразных современных методов исследования. Полученные данные логично и чётко изложены, хорошо проиллюстрированы. Результаты диссертационной работы обладают высокой степенью достоверности. Эксперименты выполнены в трёх – семи повторах, результаты хорошо воспроизводимы. В экспериментах использована выборка, достаточная для получения достоверных результатов. Статистический анализ проводили в программе RStudio 1.4.1717 (R 4.1.1) и Microsoft Excel. Для проверки

достоверности различий между контрольными и экспериментальными значениями использовали непараметрический двусторонний U-критерий Манна–Уитни. Результаты работы доложены на 5 российских конференциях и национальном конгрессе. 4 статьи по материалам работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

Выводы обоснованы и соответствуют поставленным целям и полученным результатам исследований. Автореферат соответствует содержанию диссертации и обобщает материалы опубликованных работ.

Текст диссертации хорошо выверен, но встречаются некоторые стилистические неточности. Кроме того, масштабный отрезок размещён только на одной фотографии в каждой группе снимков. Как правило, каждый снимок содержит свой масштабный отрезок. При рассмотрении гистограмм было бы более наглядным вынести временные интервалы на поле самого рисунка, а не только упоминать в подписях к рисунку. В качестве дискуссионного, возник вопрос методического характера – проводились ли эксперименты с другим режимом введения веществ при длительном культивировании клеток?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Турищевой Екатерины Павловны "Влияние растительных гормонов на дифференцировку культивируемых дермальных фибробластов человека" представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, в котором удалось выявить роль фитогормонов АБК и ГК в активации UPR в культивируемых дермальных фибробластах человека. Полученные данные позволяют предположить, что АБК и/или ГК могут стать агентами коррекции секреторно-синтетической активности и дифференцировочного статуса фибробластов, что может быть использовано при разработке подходов для нормализации секреторной активности и коррекции уровня дифференцировки фибробластов при фиброзе и нарушении заживления ран.

Приведённые выше замечания не снижают общего положительного впечатления от работы и несколько не умаляют значимости диссертационного

исследования. Диссертация 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:

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории клеточных и молекулярных основ гистогенеза
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук

Буторина Нина Николаевна

Контактные данные: тел.: 8(499)135-87-80; e-mail: butorina@idbras.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.00.11 – «эмбриология, гистология, цитология»

Адрес места работы: 119334, г.Москва, ул.Вавилова, д.26,

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук,
лаборатория клеточных и молекулярных основ гистогенеза
Тел.: 8(499)135-87-80. e-mail: butorina@idbras.ru

Подпись сотрудника ИБР им. Н.К. Кольцова РАН
Буториной Н.Н. удостоверяю:
Учёный секретарь ИБР им. Н.К. Кольцова РАН
кандидат биологических наук



01.11.2023