

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Кулебякиной Марии Александровны
на тему: «Механизмы влияния белков, секретлируемых мезенхимными
стволовыми клетками, на дифференцировку фибробластов в
миофибробласты»
по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность исследования

Диссертационная работа Кулебякиной Марии Александровны посвящена исследованию молекулярных и клеточных механизмов неполной репаративной регенерации, включающей частичное восстановление поврежденной ткани и образование рубца, а конкретнее поиску эндогенных регуляторов процесса рубцевания с целью разработки в будущем методов преодоления этой проблемы. Важность тематики связана с большой распространенностью рубцевания тканей при различных заболеваниях и повреждениях, что является серьезной проблемой в травматологии, онкологии, кардиологии, косметологии и других областях медицины. Исследования М.А. Кулебякиной были сосредоточены на одном из ключевых событий, происходящих на клеточном уровне в процессе рубцевания, а именно на дифференцировке фибробластов в миофибробласты. Ранее различные исследовательские группы, в том числе и та, членом которой является соискательница, показали, что мезенхимные стромальные/стволовые клетки (МСК) и их секретом способны влиять на процесс такой дифференцировки, что и послужило основанием для планирования диссертационного исследования. В настоящее время МСК и компоненты их секрета активно используются для приготовления биомедицинских клеточных продуктов, проходящих клинические исследования. Поэтому диссертация М.А. Кулебякиной актуальна как для фундаментальной науки, так и с точки зрения трансляции полученных результатов в практическую медицину.

Структура диссертации

Диссертация построена традиционно и состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор Литературы», «Материалы и Методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список Литературы». Объем диссертации 105 страниц, она содержит 28 рисунков и 4 таблицы. Список цитируемой литературы включает 166 ссылок, в том числе последние публикации по теме. Для удобства читателя «Введению» предшествует список используемых сокращений.

Характеристика диссертации

В обзоре литературы рассматриваются вопросы, имеющие непосредственное отношение к работе, в том числе клеточные механизмы заживления и рубцевания повреждений тканей, включая дифференцировку фибробластов в миофибробласты и задействованные в этом процессе сигнальные каскады, а также роль МСК в заживлении ран. Обзор дает достаточно полное представление о современном уровне знаний по перечисленным направлениям.

В главе «Материалы и методы» подробно описываются использованные соискательницей методы, среди которых есть традиционные методы биохимии и клеточной биологии, а также подходы, фактически разработанные заново, например, моделирование профибротического микроокружения. В работе были использованы и высокопроизводительные «омиксные» методы, в том числе протеомный анализ и транскриптомный анализ одиночных клеток. Набор методов представляется адекватным для решения задач диссертации.

Глава «Результаты» содержит данные, в целом достаточные для валидации положений, выносимых на защиту. В экспериментальной части работы М.А. Кулебякина проявила изобретательность, например, при идентификации агента, подавляющего дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Действительно, значительная часть диссертационной работы посвящена выделению возможно более чистой фракции (желательно

индивидуального вещества), обладающей этой биологической активностью. Обычно требуется привлечение больших сил для обеспечения работ по фракционированию и тестированию. В диссертации эта сложность остроумно обходится путем подтверждения активности белка DKK3 путем его инактивации еще в смеси, без окончательной изоляции. К доказательству этого положения, выносимого на защиту под последним номером 4, соискательница последовательно приходит, доказывая по пути справедливость первых трех выносимых на защиту положений и доказывая вовлеченность в процесс регулирования дифференцировки фибробластов в миофибробласты NF- κ B-зависимого сигнального пути и канонического каскада Wnt. Каждый этап этого последовательного продвижения подтвержден достаточным экспериментальным материалом. Таким образом, все вынесенные на защиту положения нашли свое обоснование.

Важно отметить, что каждое из вынесенных на защиту положений является обобщением полученных в ходе выполнения диссертационной работы новых, ранее никем не опубликованных экспериментальных данных и, следовательно, научная новизна работы сомнений не вызывает.

Выводы, которые соискательница делает, и сформулированные в диссертации научные положения основаны на полученных результатах и обоснованы. Результаты выполнения диссертации вносят вклад в понимание процессов рубцевания тканей и представляют собой научный задел для перехода к управлению этим процессом через ингибирование дифференцировки фибробластов в миофибробласты, для чего можно попытаться использовать секретом МСК, его растворимую фракцию, чистый рекомбинантный белок или ингибиторы вовлеченных в процесс дифференцировки сигнальных каскадов.

Диссертация содержит также данные о присутствии в общем секрете МСК агентов, действие которых противоположно эффекту белка DKK3 и провоцирующих дифференцировку фибробластов в миофибробласты, что создает задел для продолжения исследований по данной тематике.

С моей точки зрения, диссертация М.А. Кулебякиной вносит существенный вклад в понимание процесса заживления ран и повреждений тканей, расширяет наши представления о функциях и терапевтическом потенциале МСК и обладает трансляционным потенциалом. В связи с этим к диссертантке в порядке дискуссии есть вопросы.

1. Какой путь разработки клинической технологии ингибирования рубцевания через подавление дифференцировки фибробластов в миофибробласты она считает наиболее перспективным: использование нативных МСК, их секретома, растворимой фракции секретома, рекомбинантного белка DKK3, ингибиторов вовлеченных в процесс дифференцировки сигнальных каскадов, ингибиторов агентов, вызывающих эффекты, противоположные действию DKK3?

2. Ускоряется ли репаративная регенерация при подавлении рубцевания? Является ли отсутствие рубца достаточным условием для полного морфо-функционального восстановления? Или нужно обязательно дополнительно стимулировать регенерацию паренхиматозных элементов ткани и какую роль в этом могут играть резидентные и трансплантированные МСК?

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.4. Биохимия (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 Кулебякина Мария Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клеточной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

ЯРЫГИН Константин Никитич

10 марта 2025 г.

Контактные данные:

тел.: 7(499)2468465, e-mail: kyarygin@ibmc.msk.ru
Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.01.04 – Биохимия

Адрес места работы:

119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», лаборатория клеточной биологии
Тел.: 7(499)2468465; e-mail: kyarygin@ibmc.msk.ru

Подпись сотрудника ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Ярыгина К.Н. удостоверяю: