

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.058.07 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 08.12.2022 № 6

О присуждении Мишра Апурве, гражданке Индии ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему: «Метаболическая активность клеток адипогенной дифференцировки» по специальностям 1.5.4. – «Биохимия» и 1.5.22. – «Клеточная биология» принята к защите 06.10.2022 г., протокол № 8, диссертационным советом 21.2.058.07 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (приказ № 1135/нк от 23.09.2015г.), почтовый адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1.

Соискатель Мишра Апурва 1991 года рождения, в 2016 г. с отличием окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» по направлению подготовки 03.04.01 - Прикладные математика и физика. В период подготовки диссертации с 2016 г. по 2020 г. Мишра Апурва обучалась в аспирантуре на кафедре молекулярной и трансляционной медицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (МФТИ), трудовую деятельность не осуществляла. В 2020 г, по окончании аспирантуры по направлению 06.06.01 - «Биологические науки» соискателю присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». Диплом об окончании аспирантуры №107724 4873712, регистрационный №20411008, выдан МФТИ в 2020 г.

Диссертация выполнена на кафедре молекулярной и трансляционной медицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».

Научные руководители:

Шестопалов Александр Вячеславович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Румянцев Сергей Александрович - доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Парфенова Елена Викторовна доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН – заместитель генерального директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор института экспериментальной кардиологии;

Воротеляк Екатерина Андреевна доктор биологических наук, член-корр. РАН – руководитель лаборатории клеточной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН.

Оппонентами даны положительные отзывы на диссертацию, принципиальных замечаний нет, но возникли вопросы уточняющего характера. На них диссертант дал развернутые ответы.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своем положительном заключении, подписанным Есауленко Еленой Евгеньевной – доктором биологических наук, доцентом, профессор кафедры фундаментальной и клинической биохимии, и Мелконян Мариной Игоревной, кандидатом медицинских наук, доцентом, заведующей центральной научно-исследовательской лабораторией, и утвержденном Алексеенко Сергеем Николаевичем, ректором (протокол №7 от 22.11.2022г.) отметила, что проведенное автором исследование позволило ему успешно дифференцировать мезенхимальные стволовые клетки, выделенные из липоаспираатов человека, на белые адипоциты и два типа буроподобных

адипоцитов. С использованием патоген ассоциированных молекулярных паттернов и разных миокинов, проведенное автором исследование дает подробное представление о процессе адипогенной дифференцировки, "браунинга" жировой ткани или бежевой трансдифференцировки и активации коричневых адипоцитов. Результаты диссертационного исследования представляют собой углубленный анализ функционирования белых и буроподобных адипоцитов в контексте энергетического гомеостаза, иммунных реакций и других метаболических процессов. Этот новый подход позволил количественно определять изменения на уровне экспрессии генов, секреции белка и синтеза липолитических факторов. Предложенные автором способы диагностики потенциально могут помочь в разработке новых методов лечения и подборе лекарственных средств для борьбы с ожирением и сопутствующими заболеваниями.

Отзыв положительный, критических замечаний не содержит, есть незначительные замечания, касающиеся стилистических неточностей и опечаток. Отзыв содержит 3 вопроса дискуссионного и уточняющего характера, на которые соискатель дал развернутые ответы в ходе защиты.

В заключении указывается, что по своей актуальности, научной новизне, теоретической и научно-практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Мишра А. соответствует требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в реакции постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г. и № 748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор Мишра А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата

биологических наук по специальностям: 1.5.4. «Биохимия» и 1.5.22. «Клеточная биология».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием у них публикаций в рецензируемых отечественных и международных журналах по тематике, представленной к защите диссертации.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 5 научных статей, 3 из которых опубликованы в рецензируемых профильных научных журналах включенных в перечень ВАК, и 2 тезисов докладов на конференциях.

Общий объем публикаций составил 2,1 печатных листа и содержит 82 % авторского вклада. Оригинальность работы, согласно системе «Антиплагиат» составляет 95,63 %.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Влияние агонистов TLR и миокинов на секреторную активность клеток адипогенной дифференцировки/ А. В. Шестопалов, **А. Мишра**, А. М. Гапонов, С. А. Румянцев// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2021. – № 6. – С. 708-713.
2. The Effect of LPS and Flagellin on the Process of Lipolysis in Mesenchymal Stromal Cells during Adipogenic Differentiation/ **A. Mishra**, E. V. Tsybandina, A. M. Gaponov, S. A. Roumiantsev, A. V. Shestopalov// Bull Exp Biol Med – 2021. – Vol. 170. – P. 571–574.
3. Влияние миокинов на содержание гормон-чувствительной липазы в МСК и клетках адипогенной дифференцировки/ **А. Мишра**, Е. В. Цыпандина, А. М. Гапонов, С. А. Румянцев, Р. А. Ханферьян, А. В. Шестопалов// Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины – 2020. – Т. 10. – № 4. – С. 29-35.

На автореферат поступили отзывы от:

Мелерзанова Александра Викторовича, кандидат медицинских наук по специальности 14.02.03 – «Общественное здоровье и здравоохранение, исполнительного директора научно-технологического комплекса «Прикладная генетика» Московского физико-технического института (национальный исследовательский университет).

Отзыв на автореферат содержит оценку актуальности работы, научной новизны и практической значимости исследования. Отмечается, что в работе использованы современные клеточные и биохимические методы исследования, работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук. Отзыв критических замечаний не содержит, в нем предложена интерпретация полученных соискателем результатов по сравнению метаболической активности белых и термогенных адипоцитов;

Кузнецова Александра Борисовича, кандидат медицинских наук по специальности 03.00.15 – Генетика, доцент кафедры общей и медицинской генетики МБФ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В отзыве отмечено, что актуальность исследования представляет собой фундаментальное исследование внутриклеточных биохимических путей, участвующих в регуляции белых и буроподобных адипоцитов *in vitro*. Автор дополнительно изучил изменения в метаболизме адипоцитов с помощью агонистов TLR и миокинов, используя такие методы, как конфокальная микроскопия, проточная цитометрия, ИФА, ПЦР и вестерн-блоттинг. Такая модель позволила получить комплексное понимание различных морфологических, биохимических и физиологических изменений в

адипоцитах на клеточном и молекулярном уровне. Выводы, которые делает автор, полностью соответствуют поставленным задачам. Личный вклад автора не вызывает сомнений. Автореферат написан ясным языком и отражает основные положения диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- обнаружено, что мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани способны дифференцироваться не только в белые, но и в буроподобные MYF55(-) и буроподобные MYF5(+) адипоциты, характеризующиеся экспрессией генов UCP1, MYF5, ZIC1 и увеличением общего количества митохондрий;

- показано, что патоген-ассоциированные молекулярные паттерны и миокины активируют экспрессию генов Toll-подобных рецепторов (в мезенхимальных стволовых клетках – TLR9, в белых адипоцитах – TLR2, в буроподобных MYF5(-) адипоцитах – TLR2 и TLR9) и провоспалительных генов (в мезенхимальных стволовых клетках – IL6 и IL1B, в белых и буроподобных MYF5(-) адипоцитах – IL6 и IL1B, в буроподобных MYF5(+) адипоцитах – IL1B);

- выявлено, что процесс адипогенной дифференцировки сопровождается увеличением содержания гормон-чувствительной липазы в культурах белых, буроподобных MYF5(-) и буроподобных MYF5(+) адипоцитах; количество активированной гормон-чувствительной липазы (Ser552) в белых адипоцитах заметно выше по сравнению с буроподобными MYF5(-) и буроподобными MYF5(+) адипоцитами; LPS и флагеллин увеличивают количество общей гормон-чувствительной липазы в белых и буроподобных MYF5(+) адипоцитах;

– обнаружено, что патоген-ассоциированные молекулярные паттерны и миокины активируют секрецию провоспалительных цитокинов: в мезенхимальных стволовых клетках – IL-6; в белых адипоцитах – IL-6, IL-8, TNF- α ; в буроподобных MYF5(-) адипоцитах – IL-6 и IL-8; в буроподобных MYF5(+) адипоцитах – IL-8 и TNF- α ;

– показано, что продукты белой адипогенной дифференцировки характеризуются активной секрецией адипокинов, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны подавляют секрецию лептина буроподобными MYF5(-) и буроподобными MYF5(+) адипоцитами;

– выявлено, что LPS и METRNL стимулируют секрецию факторов роста клетками различной адипогенной дифференцировки: VEGF-A, BDNF и NGF – белыми адипоцитами и NGF – буроподобными MYF5(-) и буроподобными MYF5(+) адипоцитами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

В настоящей работе впервые была осуществлена дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток (МСК), полученных из жировой ткани человека, в три метаболически различные линии адипогенной дифференцировки.

Также было показано регуляторное влияние флагеллина на функционирование МСК и на продукты их адипогенной дифференцировки. Это позволяет лучше понять механизмы регуляторной оси «микробиота – жировая ткань», которая имеет отношение к ожирению и его коморбидности. Кроме того, исследовано влияние миокинов METRNL и BAIBA на эти культуры клеток. Результаты работы позволяют детализировать механизмы участия регуляторных осей «микробиота – PAMP – жировая ткань» и «мышцы – миокины – жировая ткань» в регуляции процессов адипогенеза, «бежевой» трансдифференцировки и активации бурой жировой ткани.

Результаты диссертационной работы внедрены на кафедре молекулярной и трансляционной медицины «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Долгопрудный, и на кафедре биохимии и молекулярной биологии Федерального государственного автономного учреждения высшего образования Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

количественную и качественную сопоставимость результатов, полученных автором в ходе исследования, с результатами последних публикаций других авторов, выполненных по схожей тематике; результаты, приведенные соискателем, получены с использованием современных подходов; выводы аргументированы, научно обоснованы и являются прямым следствием результатов проведенных автором исследований. Оригинальность работы согласно системе «Антиплагиат» составляет 95,63%.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии на всех этапах проведения исследования, получении и обработке экспериментальных данных, статистической обработке полученных данных и теоретическом обобщении полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы представлены лично автором в форме устных докладов на 3-х российских конференциях с международным участием.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений

Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.08.2017г., №1168 от 01.10.2018г., № 426 от 20.03.2021г.), в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные результаты диссертации, в диссертации отсутствует заимствованный материал без ссылки на автора и (или) источник заимствования.

На заседании 08 декабря 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Мишра Апурве ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 24 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.4. – Биохимия (биологические науки) и 3 доктора наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология, участвовавших в заседании, из 31 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 23, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного
совета, доктор биологических наук,
профессор



Кузнецов Д.А.

Учёный секретарь диссертационного
совета, доктор медицинских наук,
профессор



Кягова А.А.

09.12.2022г.

