



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России)

350063, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4 тел. (861) 268-36-84 факс (861) 268-15-95 e-mail: corpus@ksma.ru
ИНН 2309023448 КПП 230901001 БИК ТОФК 010349101

№ _____ от " _____ " _____ 2022г. на № _____ от " _____ " _____ 2022г.

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
"Кубанский государственный
медицинский университет"
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Алексеев Сергей Николаевич

" _____ " _____ 2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы
Мишра Амур на тему «Метаболическая активность клеток
адипогенной дифференцировки», представленной на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям:

1.5.4. Биохимия и 1.5.22. Клеточная биология

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Мишра Амур заключается в исследовании особенностей секреторного профиля и метаболических эффектов клеток адипогенной дифференцировки, поиске лабораторных методов диагностики данных изменений, является актуальной и своевременной.

Распространенность ожирения в мире носит характер неинфекционной эпидемии. Новые данные, предоставленные Всемирной федерацией ожирения, показывают, что при сохранении текущих тенденций не менее 2,7 миллиарда взрослых людей к 2025 году (около 38% нынешнего населения планеты) будут страдать от избыточного веса. Из них у 177 миллионов будет диагностировано тяжелое ожирение, требующее медицинской помощи. Быстрый рост ожирения во всех возрастных группах является серьезной проблемой здравоохранения. Ожирение со временем может привести к резистентности к инсулину, сердечно-сосудистым заболеваниям и общему снижению продолжительности жизни. Широко распространено мнение о том, что это хроническое вялотекущее воспалительное заболевание, которое является фактором риска развития цирроза печени, желчнокаменной болезни, атеросклероза, инсульта, ишемической болезни сердца, более тяжелого течения бронхиальной астмы.

Открытие эволюционно отличной термогенной “бурой жировой ткани” увеличивает спектр методов борьбы с ожирением и его сопутствующими патологиями. Стимуляция бурых адипоцитов через адренергический рецептор активирует в организме человека липолитический путь. Но на сегодняшний день механизм действия бурых адипоцитов на клеточный метаболизм изучен лишь фрагментарно. Другой тип термогенных клеток жировой ткани - “бежевые адипоциты” являются недостаточно исследованными. В отличие от бурых адипоцитов, которые имеют миогенное происхождение, бежевые являются продуктами адипогенной трансдифференцировки. Активация обычных белых адипоцитов в «буроподобное» состояние демонстрирует многообещающий терапевтический потенциал при патологии жировой ткани.

Для успешного и безопасного применения таких методов лечения крайне важно подробно изучить метаболизм бежевых и бурых адипоцитов. Известно, что белая жировая ткань обладает не только депонирующим, но и богатым секреторным действием с паракринными и эндокринными эффектами. Такие же возможности предстоит изучить в бурой жировой ткани. Настоящее исследование ставит перед собой именно эту задачу - проанализировать функционирование буроподобных адипоцитов при стимуляции патоген ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP) и миокинами для изучения и сравнения влияния бактериальных пептидов и миогенных факторов на метаболизм белых и буроподобных адипоцитов.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Мишра Апурвы выполнена в соответствии с планами научных исследований Московского физико-технического института (национальный исследовательский университет).

Диссертация основывается на решении 4 актуальных вопросов:

а) создание модели *in vitro* для изучения метаболической активности белых и буроподобных адипоцитов человека;

б) изучение влияния бактериальных пептидов и миокинов на экспрессию Toll-подобных рецепторов (TLR), провоспалительных цитокинов и факторов транскрипции в мезенхимальных стволовых клетках (MSC), в белых и в буроподобных адипоцитах;

в) изучение влияния бактериальных пептидов и миокинов на секрецию провоспалительных цитокинов, адипокинов и факторов роста на MSC, белые и буроподобные адипоциты;

г) изучение влияния бактериальных пептидов и миокинов на процесс липолиза в белых и буроподобных адипоцитах.

Содержание диссертационной работы и ее основные положения полностью соответствуют паспортам специальности «1.5.4 – Биохимия» и «1.5.22 – Клеточная биология» (биологические науки).

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации

Автору удалось успешно дифференцировать MSC в три метаболически различные культуры адипоцитов - белые, буроподобные *MYF5*(-) и буроподобные *MYF5*(+). Используя PAMP и миокины в качестве стимуляторов, автор впервые смог сравнить секреторную активность белых, буроподобных *MYF5*(-) и буроподобных *MYF5*(+) адипоцитов *in vitro*.

PAMP и миокины активировали экспрессию толл-подобных рецепторов (TLR) 2 в белых адипоцитах и TLR2 и TLR9 в буроподобных *MYF5*(-) адипоцитах. Кроме того, во всех трех стимулированных культурах адипоцитов показано увеличение экспрессии интерлейкина (IL) 1 β ; а белые и буроподобные *MYF5*(-) адипоциты дополнительно экспрессировали IL6. PAMP и миокины увеличивали секрецию IL8 во всех культурах адипоцитов; секреция фактора роста некроза опухоли- α (TNF- α) была увеличена в белых и буроподобных

MYF5(+) культурах, а IL-6 - в белых и буроподобных *MYF5(-)* адипоцитах. PAMP снижал секрецию лептина в буроподобных адипоцитах. Стимуляция липосахарида (LPS) и метеорин-подобного белка (METRNL) увеличивала секрецию фактора роста эндотелия сосудов А и нейротрофического фактора мозга в белых адипоцитах и фактора роста нервов в белых, а также буроподобных *MYF5(+/-)* адипоцитах. Наконец, MSC после адипогенной дифференцировки стали проявлять липолитическую активность, что подтверждается присутствием общей гормоночувствительной липазы (HSL), а также ее активной формы (HSL-Ser 552). Стимуляция PAMP увеличивала общее количество HSL в белых и буроподобных *MYF5(+)* адипоцитах.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Проведенное исследование позволило автору успешно дифференцировать MSC, выделенные из липоаспираатов человека, на белые адипоциты и два типа буроподобных адипоцитов. Используя эту экспериментальную модель, автор смог наблюдать метаболические изменения, претерпеваемые в ходе адипогенного процесса. Кроме того, автор изучил влияние индукторов “браунинга” на адипогенные протоколы, которые привели к получению метаболически различных культур адипоцитов.

Микробиота недавно была связана с ожирением и его осложнениями. LPS является стандартным выбором в исследованиях клеточных культур для изучения действия бактериальных агонистов TLR. В дополнение к LPS автор использовал другой бактериальный пептид – флагеллин – для исследования оси “микробиота – жировая ткань”. Сигнальные пути, участвующие в работе регуляторной оси “скелетные мышцы – жировая ткань”, до сих пор остаются неизвестными. В попытке понять эти сложные процессы автор использовал 2 новых миокина – METRNL и β -аминоизомасляную кислоту, которые, как известно, являются метаболитами скелетных миоцитов, индуцируемыми при физической нагрузке. С использованием PAMP и миокинов настоящее 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 способы диагностики потенциально могут помочь в разработке новых методов лечения и подборе лекарственных средств для борьбы с ожирением и сопутствующими заболеваниями.

Личный вклад автора

Автором проведен поиск и анализ литературных источников по тематике диссертации, сформулированы цель и задачи исследования. Личный вклад автора состоит в наборе клеточного материала, проведении биохимических и молекулярных исследований, проведении математической обработки и статистического анализа полученных данных. Автор принимал непосредственное участие в написании текста, составлении выводов, подготовке статей, представлении результатов исследования на съездах и конференциях.

Рекомендации по использованию и выводов диссертационной работы

В настоящем исследовании автору удалось изучить три метаболически различные культуры адипоцитов, дифференцированные из MSC жировой ткани. Кроме того обнаружить, что регуляторные эффекты бактериальных пептидов и миокинов наблюдались в MSC и в продуктах их адипогенной дифференцировки.

Проведенное исследование позволило дополнить знания об изменении метаболической активности адипоцитов, а протоколы, использованные в этой диссертации, могут быть применены для дальнейшего изучения буроподобных адипоцитов *in vitro*. Результаты, полученные в этой диссертации, могут быть использованы в качестве основы для дальнейшего изучения влияния потенциальных лекарственных средств при подборе методов лечения в борьбе с ожирением и сопутствующими заболеваниями.

Основные результаты и положения данного исследования внедрены на кафедре молекулярной и трансляционной медицины МФТИ, г. Долгопрудный, и

Введение содержит все необходимые разделы. Цель соответствует теме работы, задачи конкретизируют цель, согласуются с объемом выполненных исследований. Обзор литературы отличается информативностью, логика изложения материала. В главе материалы и методы все использованные автором методы исследования информативны, достаточно точны и адекватны поставленным задачам. Результаты собственных исследований включают 4 подглавы экспериментальных исследований. В обсуждении автор подробно анализировала полученные результаты в сопоставлении с данными мировой литературы, что позволяет сформулировать достаточно полное представление о проделанной работе и ориентации соискателя в проблемной области науки.

Результаты исследований и теоретические обобщения автора неоднократно докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня. Они опубликованы в 8 научных работах, включая 6 статей включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованные ВАК при Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных работ. Диссертационная работа носит завершённый характер, оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Принципиальных замечаний по оформлению и содержанию работы нет. В тексте встречаются отдельные стилистические неточности, опечатки. Однако сделанные нами замечания не являются принципиальными и не умоляют значимости данной работы. Вместе с этим, в ходе ознакомления с содержанием диссертационной работы, возникли следующие вопросы дискуссионного и уточняющего характера:

- 1) Что заставило Вас выбрать липоаспираты, а не костный мозг в качестве источника биоматериала?
- 2) Почему Вы выбрали миокины в качестве стимуляторов для изучения метаболизма адипоцитов?
- 3) Как Вы думаете, почему буроподобные *MYF5(+)* адипоциты не показали существенных изменений в экспрессии и секреции провоспалительных цитокинов по сравнению с белами адипоцитами?

на кафедре биохимии и молекулярной биологии РНИМУ им. Н. И. Пирогова, г. Москва.

Объем и содержание работы

Диссертация Мишра Апурвы представлена в 1 томе на 151 страницах машинописного текста, изложена в традиционной форме, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов, 4 глав собственных исследований, заключения, включающего обсуждение результатов, выводов, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 36 рисунками и 27 таблицами. Библиография включает 241 публикацию, из них 4 отечественных и 237 зарубежных источников.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и сформулированных выводов

Обоснованность научных положений подтверждается корректной постановкой исследования и тщательной детальной интерпретацией полученных результатов. Основные положения, выносимые на защиту, в полной мере подтверждаются полученными результатами, выводы основаны на достаточном количестве наблюдений. Сформулированные автором задачи выполнены в полном объеме, цель достигнута. Работа подтверждена достаточным объемом выборочных данных, использованием современных методологических подходов и методов, корректных критериев статистической обработки.

Диссертация завершается 6 выводами, которые основываются на полученном фактическом материале, отражают результаты исследования и полностью соответствуют задачам.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа Мишра А. имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает содержание и основные положения диссертационного исследования. В нем отражены актуальность, цель и задачи, основные положения выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, выводы работы. Оформление автореферата соответствует современным требованиям. Замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет.

Печатные работы, опубликованные по материалам работы

По материалам работы опубликовано 8 публикаций, в том числе 6 в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования, и 2 тезисных работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертационное исследование Мишра Амурвы «Метаболическая активность клеток адипогенной дифференцировки» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решение актуальной научной задачи по изучению особенностей патологии жировой ткани имеет существенное значение для биохимии и клеточной биологии.

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 редакции 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.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, протокол № 7 от 22.11.22 года.

Профессор кафедры
фундаментальной и клинической биохимии
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
доктор биологических наук, доцент



Есауленко Елена Евгеньевна

Заведующая
Центральной научно-исследовательской лабораторией
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
кандидат медицинских наук, доцент



Мелконян Карина Игоревна

Есауленко Елена Евгеньевна, (03.01.04 - биохимия), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры фундаментальной и клинической биохимии, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России); 350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4, e-mail: esaulenkoe@bk.ru, телефон: +7 (918) 435-35-23

Мелконян Карина Игоревна, (03.00.04 - биохимия), кандидат медицинских наук, доцент, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России); 350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4, e-mail: MelkonyanKI@ksma.ru, телефон: +7 (861) 268-60-64

