

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

ХУДЯКОВА Александра Александровича на тему
«ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT В РАЗВИТИИ
АРИТМОГЕННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ НА МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННЫХ
ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертационная работа А. А. Худякова посвящена изучению механизмов формирования дефектов структуры сердечной мышцы у пациентов, страдающих редким наследственным заболеванием, аритмогенной кардиомиопатией (АКМП) обусловленной мутациями в генах кодирующих структуру белков десмосом. Актуальность исследования определяется малой изученностью механизмов трансформации мутаций структурных генов в функциональные дефекты на уровне клеток, тканей и целостного организма.

Представленная диссертация посвящена проверке гипотезы, согласно которой мутации гена плакофиллина (PKP2) наряду с изменением структуры этого белка ведут к нарушению активности сигнального пути Wnt, что может влиять на кардиогенную дифференцировку клеток и сдвигать её в адипоцитарном и фиброзном направлении.

Достижение поставленной цели было сопряжено с решением ряда конкретных задач. Автору предстояло оценить:

1. активность канонического сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных от пациентов с АКМП и здоровых доноров;

2. влияние экспрессии гена плакофиллина-2 дикого типа на активность канонического сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток;

3. влияние экзогенной экспрессии мутантных форм плакофиллина-2 на активность канонического сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток;

4. активность канонического сигнального пути Wnt в мультипотентных мезенхимных стромальных клетках и мезенхимных клетках сердца, полученных от трех пациентов с АКМП и здоровых доноров.

Кроме того, представлялось важным выявить другие сигнальные пути-регуляторы клеточной дифференцировки, активность которых изменена в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных от пациентов с АКМП и здоровых доноров.

Для решения поставленных задач автор использовал широкий круг методических приемов, который включал в себя культивирование первичных и постоянных клеточных линий, получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), проведение реакций обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени, иммуноцитохимическую окраску, сайт-специфический мутагенез и другие методы современной молекулярной и клеточной биологии. Владение столь богатым методическим арсеналом свидетельствует о высоком уровне профессиональной подготовки диссертанта.

Основной моделью, на которой была выполнена большая часть опытов, служили индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, которые автор получал путём репрограммирования стромальных клеток жировой ткани и мезенхимных клеток сердца, используя метод трансдукции вирусами Сендай, несущими “коктейль Яманаки” (коммерческий продукт компании Life Technologies).

Полученные результаты позволили автору сформулировать ряд выносимых на защиту положений, в которых в обобщенном виде суммированы конкретные выводы исследования.

Автором установлено, что в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных от пациентов с АКМП, активность сигнального пути Wnt изменена и что она регулируется уровнем экспрессии гена плакофиллина-2 (PKP2).

В работе также показано, что мутантные формы плакофиллина-2 способны модулировать активность сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

Выполненные эксперименты показали, что активность сигнального пути Wnt в мультипотентных мезенхимных стромальных клетках жировой ткани и мезенхимных клетках сердца, полученных от пациентов с АКМП, изменена. Получены данные, указывающие на то, что в ходе кардиогенной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, пациентов с АКМП, изменена также активность сигнального пути Notch.

Таким образом, научная новизна выполненного исследования состоит в том, что в нем впервые получены результаты, свидетельствующие в пользу гипотезы об участии сигнальных путей Wnt и Notch в развитии дефектов сердечной мышцы у пациентов с АКМП.

Полученные диссертантом данные вносят существенный вклад в фундаментальные представления о роли десмосомальных белков в регуляции сигнальных путей, а также о разнообразии молекулярных механизмов, лежащих в основе развития АКМП. Они демонстрируют необходимость сочетания генетических и функциональных исследований с применением различных клеточных моделей для оценки роли генетических изменений в формировании проявлений наследственных болезней человека.

Выводы, сформулированные автором, полностью обоснованы приведенными в автореферате результатами экспериментов и их обсуждением. Автореферат полно проиллюстрирован, изложен четким языком. Полученные А.А.Худяковым данные, включенные в автореферат, являются ранее не известными. Рецензируемая работа Худякова А.А. полностью отвечает критериям научной новизны и теоретической значимости.

На основании ознакомления с авторефератом диссертационного исследования можно сделать заключение о том, что представленная работа, содержит весомые новые научные данные, представляющие безусловный интерес для фундаментальной биологии и экспериментальной медицины и отвечает требованиям ВАК,

содержащимся в "Положении о порядке присуждения ученых степеней", утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Рецензент –

Климович Владимир Борисович,

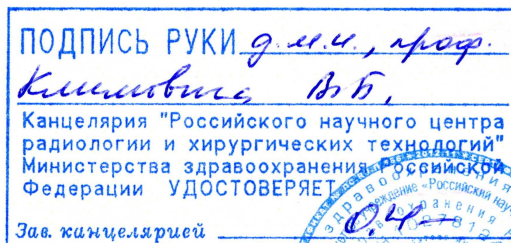
доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией гибридной технологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

197758 Санкт-Петербург, Песочный п, Ленинградская, 70.

Тел. (812) 596-84-62, info@rrcrst.ru

30. 03. 2016 г



Специальность «клеточная
биология, цитология, гистология»
– 03.03.04