

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
24.1.204.02 НА БАЗЕ ФГБНУ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ХИРУРГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Б.В. ПЕТРОВСКОГО»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «24» ноября 2022 г. № 12
о присуждении Синёву Василию Владимировичу, гражданину Российской
Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Клеточная модель митохондриальной дисфункции при атеросклерозе» по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7. – Генетика принята к защите 15 сентября 2022 года протокол № 7 диссертационным советом 24.1.204.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2), сайт организации www.med.ru в соответствии с приказом Минобрнауки России № 833/нк от 12 июля 2022 г.

Соискатель Синёв Василий Владимирович, 04 октября 1988 года рождения, в 2010 году окончил агрономический факультет РГАУ-Московскую сельскохозяйственную академию имени К.А. Тимирязева по специальности: «селекция и генетика сельскохозяйственных культур», специализация «биотехнология». С 2013 по 2016 гг. проходил аспирантуру по специальности клеточная биология, цитология, гистология в лаборатории медицинской генетики ФГБУ РКНПК Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва. С 2016 года по настоящее время является младшим научным сотрудником лаборатории медицинской генетики ФГБУ «НМИЦ Кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва. С 2020 года по настоящее время является младшим научным сотрудником лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы «Научно-исследовательский

институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского", г. Москва. Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в Научно-исследовательском институте морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского".

Научные руководители: 1. **Постнов Антон Ювенальевич**, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского". 2. **Сазонова Маргарита Александровна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Официальные оппоненты: 1. **Казубская Татьяна Павловна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической цитологии центра патоморфологии и молекулярно-генетической диагностики опухолей ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2. **Котелевцев Юрий Васильевич**, кандидат химических наук, профессор Центра Нейронаук и реабилитации мозга имени В.Л.Зельмана Сколковского института науки и технологии, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский

государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, город Казань, в положительном отзыве, подписанном Рагиновым Иваном Сергеевичем, доктором медицинских наук, доцентом кафедры общей патологии ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ, указано, что диссертация Синёва В.В. соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7 – Генетика, а автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7 – Генетика.

Соискатель имеет 60 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 8, из них 5 оригинальных и 3 обзорные статьи в журналах, входящих в Перечень ВАК РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 9 публикаций – в материалах конференций. Все публикации написаны в соавторстве.

Наиболее значимые работы:

1. Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Sazonova M.D., Karagodin V.P., Orekhov A.N., Sobenin I.A., Sinyov V.V., Khasanova Z.B., Shkurat T.P. Creation of cybrid cultures containing mtDNA mutations m.12315G>A and m.1555G>A, associated with atherosclerosis. // *Biomolecules*. 2019. Т. 9. № 9. С. 499.
2. Sinyov V.V., Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Galitsyna E.V., Melnichenko A.A., Postnov A.Y., Orekhov A.N., Grechko A.V., Sobenin I.A. Potential use of buccal epithelium for genetic diagnosis of atherosclerosis using mtdna mutations. // *Vessel Plus*. 2017. Т. 1. С. 145-150.
3. Сазонова М.А., Синёв В.В., Рыжкова А.И., Сазонова М.Д., Дорощук Н.А., Кириченко Т.В., Орехов А.Н., Собенин И.А. Создание цибридных культур, содержащих мутацию митохондриального генома m.1555A>G (ген

MT-RNR1), имеющую протективный эффект при атеросклерозе. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2021. Т. 65. № 4. С. 121-127.

4. Сазонова М.А., Синёв В.В., Рыжкова А.И., Сазонова М.Д., Дорошук Н.А., Кириченко Т.В., Карагодин В.П., Орехов А.Н., Собенин И.А. Создание гибридных клеточных культур, содержащих однонуклеотидную замену в гене MT-TL2, ассоциированную с атеросклерозом. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2020. Т. 64. № 4. С. 140-147.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На автореферат поступили отзывы: 1. от кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва) **Ковалевой О.В.**; 2. от кандидата медицинских наук, заведующего лабораторией молекулярной трансляционной и цифровой медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (г. Кемерово) **Кутихина А.Г.**; 3. от кандидата медицинских наук, доцента кафедры анатомии человека Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (г. Москва) **Суслова А.В.**; 4. от доктора фармацевтических наук, профессора, профессора кафедры фармации ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар) **Бат Н.М.**; 5. от доктора медицинских наук, профессора кафедры биологии с курсом медицинской генетики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар) **Почешхова Э.А.**

Отзывы положительные, критических замечаний в отзывах по представленной работе нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их

для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном уровне, выводы диссертации достоверны, соответствуют поставленным задачам и в полном объеме отражают результаты исследования.

Выбор ведущей организации обоснован тем, что ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России в течение многих лет является одним из ведущих учреждений по изучению молекулярных механизмов сердечно-сосудистых заболеваний, а также по технологиям клеточной и тканевой инженерии. **Выбор официальных оппонентов обоснован** тем, что **Казубская Татьяна Павловна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической цитологии центра патоморфологии и молекулярно-генетической диагностики опухолей ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения Российской Федерации является автором приоритетных работ по изучению генетических aberrаций и их гетерогенности как фактора развития различных заболеваний человека; **Котелевцев Юрий Васильевич**, кандидат химических наук, профессор Центра Нейронаук и реабилитации мозга имени В.Л.Зельмана Сколковского института науки и технологии является одним из ведущих специалистов в области создания и изучения трансгенных моделей сердечно-сосудистых заболеваний.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем экспериментальных исследований решена актуальная научная задача – создана гибридная модель с разным уровнем гетероплазмии мутаций митохондриального генома для изучения митохондриальной дисфункции при атеросклерозе и проведена оценка вариабельности пяти мутаций митохондриального генома, ассоциированных с атеросклерозом, в различных клетках и тканях человека.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что были созданы две гибридные линии с высоким и низким уровнем гетероплазмии. Определено функциональное состояние митохондрий на гибридной

клеточной модели. Впервые определена степень гетероплазмии мутаций митохондриального генома m.13513G>A, m.3256C>T, m.3336T>C, m.12315G>A и m.1555A>G в различных тканях человека. Полученные данные о вариабельности мутаций митохондриального генома в различных клетках и тканях человека позволят судить о распределении нормального и мутантного аллеля митохондриального генома в онтогенезе.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: культуральные (создание цитоплазматических гибридов), цитологические (конфокальная микроскопия), электрохимические (полярографический метод определения концентрации кислорода) и генетические исследования (ПЦР, пиросеквенирование), систематизация и статистический анализ полученных результатов, написание статей. **Изложены** доказательства того, что для изучения функционирования митохондрий в качестве клеточной модели могут быть использованы цитоплазматические гибриды. Созданные автором клеточные линии для изучения функционирования митохондрий и связанных с ним генетических aberrаций в митохондриальном геноме могут быть использованы в качестве клеточной модели процессов атерогенеза. По результатам исследования получены новые данные о гетероплазмии митохондриального генома, а именно её вариабельности в различных тканях человека.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики обосновывается тем, что результаты диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую работу в лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына».

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана их воспроизводимость, использованы современные приборы и

специализированные программы анализа: конфокальный микроскоп ZeissLSM710 с камерой LSMT-PMT (Zeiss, Германия); Pt-электрод Кларка в составе прибора ОхуgraphPlus (Hansatech Instruments, Великобритания); наноспектрофотометре IMPLEN NanoPhotometr™ (ImplenGmbH, Германия) с использованием микрокюветы LabelGuard™(ImplenGmbH, Германия); амплификатор PTC DNA Engine 200 (Bio-Rad, Китай); гель-документирующая система MolecularImager® GelDoc™ XR System (BioRad, Китай) при использовании ультрафиолетового фильтра; пиросеквенатор PyroMark Q96 MD (Qiagen, Германия). Построение графиков и диаграмм проводили с помощью программного пакета OriginPro 2018 SR1 версии 9.5.1.195 (OriginLabCorp., США). Статистический обработку данные осуществляли с помощью программного пакета Prism версии 9.1.0 (GraphPadSoftware, США).

Теория исследования построена на известных данных о том, что однонуклеотидные полиморфизмы митохондриального генома могут приводить к дисфункции митохондрий, и, в дальнейшем, к нарушению функционирования клетки; **идея базируется** на моделировании variability гетероплазмии мутаций митохондриального генома в клетках, которые определяют особенности функционирования клеток. **Использовано** сравнение собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по изучению гетероплазмии мутаций митохондриального генома и созданию цитоплазматических гибридов как в России, так и за рубежом. **Установлено совпадение** части полученных результатов с данными, представленными в независимых источниках по изучаемой тематике, о том что в различных органах и тканях одного и того же человека уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома может существенно различаться, в частности различия уровня гетероплазмии между буккальным эпителием и клетками крови по мутациям m.12315G>A и m.3336T>C. Используются репрезентативные группы пациентов, а также современные методики сбора и анализа полученных результатов.

Личный вклад соискателя состоит в анализе литературы и определении научной проблемы, планировании исследования, проведении эксперимента, обработке и анализе полученных результатов, статистическом анализе данных, интерпретации результатов и подготовке публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания: не обоснован выбор красителей митохондрий, которые были использованы в работе; не исследован уровень гетероплазмии при культивировании полученных цибридных линий, который может меняться с течением времени и пассажей, поэтому считать полученные цибриды со стабильным высоким и низким уровнем гетероплазмии нельзя; в результате выполнения диссертации автор получил не клеточную модель, а клеточные линии, так как в работе не было проведено функциональных тестов, подтверждающих, что полученные цибриды – это клеточная модель атеросклероза; диссертантом не обоснованы выборки пациентов, от которых были получены клетки и ткани для анализа вариабельности мутаций митохондриального генома. Эти критические замечания носят скорее дискуссионный характер, и они не ставят под сомнение основные выводы, сформулированные на основе результатов диссертационного исследования.

На заседании 24 февраля 2022 г. диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи – создание цибридных клеточных линий с высоким и низким уровнем гетероплазмии митохондрий по двум мутациям, ассоциированным с атеросклерозом, и оценку функционального состояния митохондрий и вариабельности гетероплазмии митохондриального генома по пяти мутациям, ассоциированным с атеросклерозом, в полученных клеточных линиях присудить Синёву В.В. ученую степень кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7. – Генетика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология и 3 доктора наук по специальности 1.5.7. - Генетика,

участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, из них 3 человека дополнительно введены на разовую защиту, проголосовали: за – 14, против – 4, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета 24.1.204.02
член-корр. РАН, д.м.н., профессор Людмила Михайловна Михалёва

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.204.02
д.б.н. Анна Михайловна Косырева

«25» ноября 2022 г.

