

УТВЕРЖДАЮ

Проректор ФГБОУ ВО

Казанский ГМУ Минздрава

России



Д.И. Абдулганиева

2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России о значимости диссертационной работы Синёва Василия Владимировича, на тему «Клеточная модель митохондриальной дисфункции при атеросклерозе», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7. – Генетика.

Актуальность диссертационной темы

Диссертационное исследование В.В. Синёва имеет важное научное значение, так как дисфункция митохондрий ассоциируется с началом и прогрессированием атеросклероза, а изучением связи между митохондриальной дисфункцией и атеросклерозом имеет значение для понимания механизмов регуляции.

Митохондриальные дисфункции могут привести к возникновению различных патологических процессов в клетке. Основным следствием нарушения энергетического обмена в митохондриях является нарушение синтеза АТФ. Также нарушение переноса электронов между комплексами дыхательной цепи

способствует увеличению продукции активных форм кислорода митохондриями. Однонуклеотидные полиморфизмы митохондриального генома могут приводить к дисфункции митохондрий, и, в дальнейшем, приводить к нарушению нормального функционирования клетки. При этом следует учитывать, что в одной клетке копии митохондриальной ДНК могут иметь как нормальные, так и мутантные аллели и быть в разном соотношении (гетероплазмия). Может также наблюдаться неравномерность данного соотношения в различных типах клеток и тканей одного организма. Поэтому определение уровня гетероплазмии мутаций митохондриального генома и установление роли точечных полиморфизмов в функционировании митохондрий имеет несомненную актуальность в настоящее время.

Оценка новизны, достоверность и ценность полученных автором результатов

Автором созданы две цибридные линии с высоким и низким уровнем гетероплазмии. Определено функциональное состояние митохондрий на цибридной 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 клетках и тканях человека. Впервые определен уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома m.13513G>A, m.3256C>T, m.3336T>C, m.12315G>A и m.1555A>G в различных типах клеток крови 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.

Таким образом, созданные 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 знания о гетероплазмии митохондриального генома, а именно её вариабельности по различным типам клеток и тканей человека.

Достоверность результатов подтверждается достаточным количеством исследованных образцов ткани; воспроизводимостью результатов; использованием современных, адекватных поставленным задачам, методов; применением статистических методов анализа полученных данных; критическим анализом собственных результатов и сопоставлением их с данными других исследователей. Выводы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи, что подтверждается наличием последовательного плана исследования и объемным методологическим аппаратом.

Обоснованность научных положений и выводов

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений, так как в работе использован достаточный по числу наблюдений материал и адекватное задачам количество групп. Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных методов исследования, в том числе, культуральные методы, которые позволили создать цитоплазматические гибриды: ПЭГ (полиэтиленгликоль)-слияние, выделение тромбоцитов, культивирование клеток в контролируемых условиях среды; цитологические методы, использованные для изучения клеточной модели: измерение мембранного потенциала и совокупной массы митохондрий с помощью конфокальной

микроскопии; и биохимические методы, позволившие провести сравнительный анализ клеточного дыхания. Также использовались генетические методы, которые позволили определить уровень мутационной нагрузки митохондриального генома в различных типах клеток и тканей человека: выделение ДНК методом фенол-хлороформной экстракции, метод полимеразной цепной реакции, количественное определение уровня гетероплазмии мутаций митохондриального генома с помощью пиросеквенирования.

Объективность полученных данных была подтверждена статистическим анализом результатов данных.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа Синёва В.В. «Клеточная модель митохондриальной дисфункции при атеросклерозе» соответствует специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7 – Генетика.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Созданы две цибридные линии с высоким и низким уровнем гетероплазмии. Определено функциональное состояние митохондрий на цибридной 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 клетках и тканях человека. Впервые определен уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома m.13513G>A, m.3256C>T, m.3336T>C, m.12315G>A и m.1555A>G в различных типах клеток крови 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.

Таким образом, созданные 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 знания о гетероплазмии митохондриального генома, а именно её вариабельности по различным типам клеток и тканей человека.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты исследования используются в научно-исследовательской работе в лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИМЧ им. Акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского».

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, в том числе 5 оригинальных и 3 обзорные статьи в журналах, входящих в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук».

Соответствие автореферата содержанию диссертации. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертацию, оформлен в соответствии с требованиями п. 25 Положения о присуждении ученых степеней.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

Вопрос:

В последнее время выходит большое количество работ, ставящих под

сомнение значимость исследований *in vitro*, из-за низкой корреляции получаемых результатов с данными *in vivo*. Какие факты дают уверенность автору, что предлагаемые клеточные модели патологии митохондрий будут сопоставимы с развитием атеросклероза в организме человека?

Заключение

Таким образом, диссертация Синёва Василия Владимировича на тему: «Клеточная модель митохондриальной дисфункции при атеросклерозе», выполненная под руководством д.м.н. Постнова Антона Ювенальевича и к.б.н. Сазоновой Маргариты Александровны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – создана модель изучения генетических aberrаций в митохондриальном геноме на клеточных линиях.

Результаты диссертационной работы имеют важное научно-практическое значение для специалистов в области клеточной биологии и генетики.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 N.723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата/доктора наук, а ее автор Синёв В.В. достоин присуждения искомой степени по специальностям 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7. – Генетика.

Настоящий отзыв подготовлен доцентом кафедры общей

патологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, доктором медицинских наук, Рагиновым Иваном Сергеевичем (03.00.25 – гистология, цитология и клеточная биология), обсужден и утвержден на заседании кафедры общей патологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, протокол № 10/22 от «13» октября 2022 года.

Доцент кафедры общей патологии
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ
Минздрава России, доктор
медицинских наук

Подпись д.м.н Рагинова И.С.
заверяю



И.С. Рагинов

Подпись	<i>Рагинов И.С.</i>	удостоверяю.
Специалист по кадрам	<i>Мушкова В.В.</i>	
« 31 » 10	20 22	г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 420012, Приволжский федеральный округ, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Бутлерова, д.49, тел. 8 (843) 236-06-52, e-mail: rector@kazangmu.ru