

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.180.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ И
ПАТОФИЗИОЛОГИИ», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 28 апреля 2022 г. №3

О присуждении Сухорукову Василию Николаевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Взаимодействие проатерогенных дегликозилированных липопротеидов с макрофагами» по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, принята к защите 24 февраля 2022 года, протокол №2, диссертационным советом 24.1.180.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель **Сухоруков Василий Николаевич**, 1986 года рождения.

Сухоруков В.Н. в 2009 году окончил магистратуру Санкт-Петербургского государственного университета по специальности «Биология». В настоящее время работает младшим научным сотрудником лаборатории ангиопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Диссертационная работа «Взаимодействие проатерогенных дегликозилированных липопротеидов с макрофагами» выполнена в лаборатории ангиопатологии Федерального государственного бюджетного

научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Научный руководитель:

Собенин Игорь Александрович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», руководитель лаборатории медицинской генетики Научно-исследовательского института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Соколов Алексей Викторович – доктор биологических наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского отдела биохимических исследований Центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А.Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Макаревич Павел Игоревич – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,

дали положительные отзывы о диссертации, содержат вопросы и замечания уточняющего и дискуссионного характера, не снижающие общей высокой оценки работы.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и

профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном заключении, подписанном руководителем отдела изучения биохимических факторов риска хронических неинфекционных заболеваний и лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, доктором биологических наук, профессором Метельской Викторией Алексеевной, и руководителем лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, кандидатом медицинских наук Мешковым Алексеем Николаевичем, указано, что диссертационная работа представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, содержащую решение актуальной задачи современной патофизиологии: изучения молекулярно-клеточных механизмов взаимодействия дегликозилированных липопропротеидов с человеческими макрофагами. Диссертационная работа Сухорукова Василия Николаевича «Взаимодействие проатерогенных дегликозилированных липопропротеидов с макрофагами», соответствует требованиям пунктов Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного рядом Постановлений Правительства РФ: №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.10.2018, №426 от 20.03.2021, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология. Отзыв обсужден и утвержден на совместном заседании отдела изучения биохимических факторов риска хронических неинфекционных заболеваний и лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, протокол №2 от 31 марта 2022 г.

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 16 работ. В статьях изложены основные результаты проведенных исследований. Из них большинство публикаций написаны в соавторстве, что обосновано комплексным характером проведенных исследований, авторский вклад Сухорукова Василия Николаевича допускает

использование опубликованного материала для защиты диссертации. Недостоверные сведения о работах, опубликованных соискателем ученой степени, в диссертации отсутствуют. Сведения об опубликованных работах представлены в диссертации.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Сухоруков В. Н.**, Карагодин В. П., Орехов А. Н. Атерогенные модификации липопротеинов низкой плотности. // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62. № 4. С. 391–402.
2. **Sukhorukov V. N.**, Karagodin V. P., Zakiev E. R., Grechko A. V., Orekhov A. N. Sialidases: Therapeutic and Antiatherogenic Potential. // Curr. Pharm. Des. 2017. Т. 23. № 31. С. 4696–4701.
3. Orekhov A. N., Pushkarsky T., Oishi Y., Nikiforov N. G., Zhelankin A. V., Dubrovsky L., Makeev V. J., Foxx K., Jin X., Kruth H. S., Sobenin I. A., **Sukhorukov V. N.**, Zakiev E. R., Kontush A., Goff W. Le, Bukrinsky M. HDL activates expression of genes stimulating cholesterol efflux in human monocyte-derived macrophages // Exp. Mol. Pathol. 2018b. Т. 105. № 2. С. 202–207.
4. **Sukhorukov V.**, Gudelj I., Pučić-Baković M., Zakiev E., Orekhov A., Kontush A., Lauc G. Glycosylation of human plasma lipoproteins reveals a high level of diversity, which directly impacts their functional properties // Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids. 2019. Т. 1864. № 5. С. 643–653.
5. Orekhov A. N., **Sukhorukov V. N.**, Nikiforov N. G., Kubekina M. V., Sobenin I. A., Foxx K. K., Pintus S., Stegmaier P., Stelmashenko D., Kel A., Poznyak A. V., Wu W.-K., Kasianov A. S., Makeev V. Y., Manabe I., Oishi Y. Signaling Pathways Potentially Responsible for Foam Cell Formation: Cholesterol Accumulation or Inflammatory Response—What is First? // Int. J. Mol. Sci. 2020b. Т. 21. № 8. С. 2716.
6. **Sukhorukov V. N.**, Khotina V. A., Chegodaev Y. S., Ivanova E., Sobenin I. A., Orekhov A. N. Lipid Metabolism in Macrophages: Focus on Atherosclerosis. Biomedicines. 2020. Т. 8. № 8. С. 262.

7. **Sukhorukov V. N., Khotina V. A., Bagheri Ekta M., Ivanova E. A., Sobenin I. A., Orekhov A. N.** Endoplasmic Reticulum Stress in Macrophages: The Vicious Circle of Lipid Accumulation and Pro-Inflammatory Response // *Biomedicines*. 2020a. T. 8. № 7. С. 210.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

на диссертацию: заключение организации, где выполнялась работа – ФГБНУ «НИИОПП», заключение положительное, содержит рекомендацию к защите; отзыв ведущей организации – ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;

отзывы на автореферат прислали:

1. **Авдонин Павел Владимирович**, доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории физиологии рецепторов и сигнальных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук»; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;
2. **Кутихин Антон Геннадьевич**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярной, трансляционной и цифровой медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;
3. **Панасенко Олег Михайлович**, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства России»; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;
4. **Грачев Алексей Николаевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства

здравоохранения Российской Федерации; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;

5. **Лохонина Анастасия Вячеславовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории регенеративной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит;
6. **Ланкин Вадим Зиновьевич**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, и.о. руководителя отдела биохимии свободнорадикальных процессов Института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; отзыв положительный, замечаний и вопросов не содержит, однако отмечено следующее: «Единственный упрек, который можно высказать автору состоит в излишней категоричности приписывания десалированным липопротеидам основного фактора атерогенеза. В настоящее время известно участие в механизмах атерогенеза и дисфункции эндотелия модификаций ЛНП, возникающих при окислительном, карбонильном и галогенирующем стрессах. В модификации частиц ЛНП при воспалении также могут участвовать реакции, связанные с генерированием активных форм кислорода. Высказанные соображения никоим образом не умаляют достоинств рецензируемой диссертации, не подвергают сомнению ее выводы и высказаны исключительно в плане научной дискуссии».

Во всех отзывах отмечается актуальность и новизна исследования, высокий методический уровень работы, практическая значимость.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается профилем выполненной диссертационной работы:

Соколов Алексей Викторович – специалист в области диагностических маркёров и предикторов развития сердечно-сосудистых заболеваний;

Макаревич Павел Игоревич – специалист в области комбинированной генной терапии ишемических заболеваний и изучения механизмов ангиогенеза.

Научная работа отдела изучения биохимических факторов риска хронических неинфекционных заболеваний и лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России соответствует профилю работы Сухорукова В.Н.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложена гипотеза о том, что провоспалительный ответ макрофагов на модифицированные липопротеиды низкой плотности может являться причиной накопления внутриклеточного холестерина и образования пенистых клеток;

предложена гипотеза о том, что десиалирование липопротеидных частиц может вызывать одновременную проатерогенную модификацию как липопротеидов низкой, так и высокой плотности, синергичным образом усиливая атерогенный эффект, наблюдаемый в условиях клеточной модели накопления холестерина;

доказана регуляторная роль генов IL15, EIF2AK3, ANXA1, IL7 и IL7R в накоплении холестерина в макрофагах и генов INSIG1 и LDLR в оттоке холестерина;

разработана, на основе данных об изменении активации сигнальных путей макрофагов при взаимодействии с модифицированными липопротеидами низкой плотности, научная идея о том, что десиалирование липопротеидов низкой плотности *in vivo* в организме человека является основным путем атерогенной модификации липопротеидов низкой плотности.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Доказаны регуляторная роль генов PERK, IL15, IL7, IL7R и ANXA1 в процессе накопления внутриклеточного холестерина в макрофагах, а также то,

что гены LDLR и INSIG1 принимают участие в регулировании оттока холестерина из клеток;

применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий набор молекулярно-биологических методов: был использован нокдаун генов LDLR, INSIG1, FADS1, IL7, IL7R, IL15, ANXA1, CXCL8, DUSP1, EIF2AK3, F2RL1, TIGIT и TSPYL2 при помощи siPHK, нокдаун гена ABCA1 при помощи плазмиды shPHK, нокдаун гена SCARB1 при помощи miPHK, детекция нокдауна методом количественной ОТ-ПЦР; биохимические методы включали выделение липопroteидов методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности, липопroteиды модифицировали с помощью гликозидаз (нейроминидазы, бета-галактозидазы, пептид-N-гликозидазы F), окисления и ацетилирования, определение гликанового состава методом сверхвысокой жидкостной хроматографии с гидрофильным взаимодействием с детектированием флуоресценции и масс-спектрометрии; моноциты выделяли из человеческой крови методом магнитной сепарации; биоинформационный метод использовали для анализа изменения профиля сигнальных путей в макрофагах при их взаимодействии с модифицированными липопroteидами; статистический анализ проводили с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, США) и Statistica 6.1 (StatSoft, Франция).

изложена гипотеза о том, что провоспалительный ответ макрофагов на модифицированные липопroteиды низкой плотности может являться одной из причин накопления внутриклеточного холестерина и образования пенистых клеток;

изучены корреляции между гликановым составом липопroteидов высокой и низкой плотности и биологическими функциями этих липопroteидов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

получен Патент №2698199 «Средство для подавления экспрессии генов, связанных с накоплением холестерина макрофагами человека» на использование обнаруженных в ходе диссертационного исследования генов для возможного лечения атеросклероза с помощью подавления экспрессии выявленных генов.

Определение гликанового состава липопротеидов может быть использовано в клинической практике для характеристики степени десиалирования циркулирующих липопротеидов и, соответственно, их атерогенного потенциала, которые могут являться биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: результаты получены в грамотно спланированном и выполненном лабораторном исследовании с одобрения Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП», на сертифицированном оборудовании с использованием современных научных методов, адекватным поставленным задачам; достоверность полученных результатов подкрепляется достаточным числом независимых экспериментов и использованием адекватных методов статистической обработки экспериментальных данных.

теория построена на известных, проверяемых данных, а также согласуется с опубликованными результатами по теме диссертации;

идея базируется на анализе передового отечественного и зарубежного опыта и на обобщении экспериментальных данных;

использованы современные методы сбора, анализа и статистической обработки данных, проведено сравнение авторских данных и полученных ранее данных из доступных литературных источников, научные положения и выводы обоснованы.

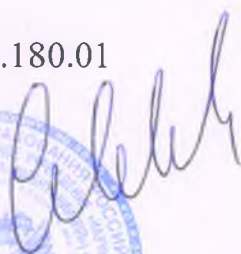
Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участие соискателя в получении исходных данных и научных экспериментах, в статистической обработке полученных данных и их интерпретации, в

апробации результатов исследования на международных научных конференциях, подготовке публикаций по выполненной работе.

На заседании 28 апреля 2022 года диссертационный совет **принял решение:** за решение научной задачи по расширению и углублению представлений о молекулярно-клеточных механизмах взаимодействия дегликозилированных липопротеидов высокой и низкой плотности с макрофагами, присудить Сухорукову Василию Николаевичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 17 докторов наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета 24.1.180.01
доктор медицинских наук,
профессор, член-корр. РАН



Морозов Сергей Георгиевич

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.180.01
доктор биологических наук,
доцент



Панкова Наталия Борисовна

28 апреля 2022 г.