

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации



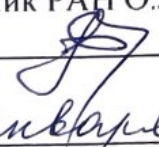
Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний»
(НИИ КПССЗ)

бульвар имени академика Л.С. Барбараша, стр. 6,
г. Кемерово, Кемеровская область – Кузбасс, 650002
тел. 8 (3842) 643-308, факс 8 (3842) 643-410
e-mail: reception@kemcardio.ru
www.kemcardio.ru
ОКПО 55608705; ОГРН 1034205024479;
ИНН/КПП 4205012290/420501001

№ _____
на № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения
«Научно-исследовательский
институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых
заболеваний»,
академик РАН О.Л. Барбараш




января 2025 г

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» о научно-практической значимости диссертационной работы Хотинной Виктории Александровны «Изучение роли митохондриального генома в формировании проатеросклеротического фенотипа моноцитоподобных клеток линии ТНР-1 и созданных на их основе цитоплазматических гибридов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Атеросклероз занимает ведущее место среди причин смертности и инвалидизации населения во всем мире. Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении, механизмы развития атеросклероза остаются не до конца изученными, что затрудняет разработку новых подходов к его профилактике и терапии.

Учитывая возрастающий интерес к исследованию роли митохондриальной дисфункции в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, исследование генетических аспектов, включая митохондриальные мутации, имеет особую значимость. Митохондриальная ДНК (мтДНК), в отличие от ядерной, обладает более высокой частотой мутаций и недостаточно эффективными механизмами репарации. Мутации мтДНК могут оказывать непосредственное влияние на функционирование дыхательной цепи

митохондрий, приводя к снижению продукции энергии, образованию избыточного количества активных форм кислорода и запуску каскада воспалительных реакций. Эти процессы, в свою очередь, играют ключевую роль в патогенезе атеросклероза, способствуя нарушению функции клеток и формированию атеросклеротической бляшки и её осложнениям.

В ряде исследований была показана связь некоторых мутаций мтДНК с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. Например, мутации в генах, кодирующих субъединицы дыхательной цепи, такие как ND1, ND5, COX3, и CYB, ассоциируются с повышенным риском развития гипертензии, ишемической болезни сердца и кардиомиопатий. Исследование мутации m.15059G>A в гене *MT-CYB* и ее роли в развитии атеросклероза, представляет особый интерес, поскольку этот ген кодирует белок, субъединицу цитохрома b дыхательной цепи митохондрий, играющего центральную роль в транспорте электронов. Изменения в белковой структуре могут приводить к дисфункции комплекса III электрон-транспортной цепи и нарушениям энергетического обмена в клетках. Данные процессы, в свою очередь, способны вызывать патологические изменения в клетках, в том числе нарушения метаболических процессов и развитие воспалительных реакций.

Связь с планом научных исследований

Диссертационное исследование Хотиной В.А. на тему: «Изучение роли митохондриального генома в формировании проатеросклеротического фенотипа моноцитоподобных клеток линии THP-1 и созданных на их основе цитоплазматических гибридов» выполнено в соответствии с тематикой и планом научной деятельности Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Представленные в работе Хотиной В.А. данные отличаются научной новизной, поскольку вносят значимый вклад в расширение знаний о молекулярных механизмах патогенеза атеросклероза. С применением цитоплазматических гибридов автором была продемонстрирована функциональная значимость данной мутации в контексте нарушения митохондриальных функций. Таким образом, автором впервые продемонстрирована связь мутации m.15059G>A в гене *MT-CYB* с развитием митохондриальной дисфункции в моноцитоподобных клетках. Было установлено, что данная мутация приводит к снижению мембранного потенциала митохондрий, повышению продукции активных форм кислорода, а также снижению общей митохондриальной эффективности. Кроме того, автором получены новые данные о связи данной мутации с нарушением активации PINK1/Parkin-опосредованной митофагии и изменением воспалительного ответа. Эти данные свидетельствуют о том, что мутация m.15059G>A может быть использована как потенциальный биомаркер для оценки риска развития атеросклероза. Кроме того,

полученные автором результаты расширяют существующие представления о роли митохондриальных нарушений в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.

Не менее важным аспектом работы является применение системы редактирования генома CRISPR/Cas9 для удаления мутантной мтДНК. Такой подход позволил установить связь между мутацией и нарушениями клеточного метаболизма и воспаления. Введение метода редактирования генома в исследования атеросклероза открывает перспективы для дальнейшего применения технологии в моделировании сердечно-сосудистых заболеваний.

Выводы диссертации Хотиной В.А. являются новыми, научно обоснованы, базируются на анализе достаточного фактического материала с применением современных методов (включая количественную ПЦР, конфокальную микроскопию и проточную цитометрию), что подчеркивает их значимость для дальнейшего изучения механизмов атерогенеза. Методологическая новизна диссертации заключается в получении модифицированных цибридных линий с митохондриальными мутациями для моделирования различных аспектов патогенеза атеросклероза. Используемые методы исследования адекватны поставленным цели и задачам научной работы, рекомендованы к использованию в фундаментальных и прикладных исследованиях, направленных на изучение митохондриальных нарушений.

Обоснованность использованных методов, а также полученных результатов и положений диссертации

В соответствии с поставленными целью и задачами В.А. Хотина провела комплексную оценку патогенетических механизмов развития атеросклероза, что существенно расширяет представления о роли митохондриальных нарушений в данном процессе. Выбранный автором методологический подход основан на применении современных и высокоточных методов, таких как нацеленное на митохондрии CRISPR/Cas9-редактирование, цифровая капельная и количественная ПЦР, конфокальная микроскопия и проточная цитофлуориметрия. Применение цитоплазматических гибридов в качестве клеточных моделей позволило воспроизвести ключевые молекулярные нарушения, связанные с данной мутацией, и провести глубокий анализ изменений клеточной функции. Использование системы редактирования CRISPR/Cas9 позволило эффективно удалять мутантные мтДНК в клетках цитоплазматических гибридов, что подтверждено данными цифровой капельной ПЦР и T7-анализом. Проточная цитофлуориметрия обеспечила точную оценку уровня АФК, мембранного потенциала митохондрий и перекисного окисления липидов в клетках. Анализ митофагии основан на использовании конфокальной микроскопии и оценки экспрессии генов, ассоциированных с процессом деградации митохондрий. Изучение воспалительного ответа, включая секрецию цитокинов и активацию инфламмосомы, было проведено с применением иммуноферментного анализа и количественной ПЦР.

Результаты собственных исследований сопоставлены с актуальными литературными данными, что позволило автору провести всестороннюю и достоверную оценку влияния мутации на клеточные процессы. Обоснованность и достоверность выводов обеспечены

грамотным дизайном исследования и применением широкого спектра экспериментальных подходов.

Выводы и научные положения, выносимые на защиту диссертации В.А. Хотиной, основаны на использовании современных методов лабораторных исследований, характеризующихся высокой специфичностью, надёжностью и воспроизводимостью. Статистическая обработка результатов выполнена корректно, с применением методов, соответствующих современным стандартам, что также подтверждает достоверность полученных выводов.

Материалы диссертации представлены в публикациях в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах в необходимом объеме, а также обсуждены на конференциях международного уровня, что подтверждает высокий научный уровень работы.

Научная и практическая значимость полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы В.А. Хотиной заключается в расширении и углублении знаний о патогенетических механизмах атеросклероза, включая выявление роли митохондриальной мутации m.15059G>A в развитии митохондриальной дисфункции и активации воспалительных процессов. Результаты исследования демонстрируют, что данная мутация приводит к дефектам митофагии, усилению продукции активных форм кислорода и нарушению экспрессии генов, регулирующих воспаление и апоптоз. Эти данные углубляют существующие представления о молекулярных механизмах, лежащих в основе атерогенеза, и подчеркивают важную роль митохондриальных нарушений в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.

Работа имеет фундаментальное значение для науки, поскольку исследует связь между мутацией в митохондриальном геноме и патологическими процессами, включая хроническое воспаление и нарушения энергетического обмена иммунных клеток. Результаты исследования открывают новые перспективы для изучения роли митохондриальной дисфункции в других заболеваниях, таких как кардиомиопатия, гипертензия и метаболические нарушения. Понимание механизмов, лежащих в основе данных патологий, создаёт основу для разработки новых диагностических и терапевтических стратегий.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных результатов для поиска молекулярно-генетических биомаркеров, позволяющих проводить раннюю диагностику атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. Выявленные механизмы позволяют более глубоко понять патогенез атеросклероза, что в перспективе может способствовать разработке высокоэффективных подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний. Также результаты исследования могут быть применены для создания для разработки новых клеточных моделей, которые могут использоваться для скрининга и оценки новых терапевтических средств, направленных на устранение митохондриальных нарушений и подавление воспалительных процессов в клетках.

Таким образом, результаты диссертации В.А. Хотиной имеют высокую значимость как для фундаментальной науки, так и для клинической практики. Они способствуют решению одной из ключевых задач современной кардиологии — снижению бремени атеросклероза и связанных с ним осложнений. Работа соответствует мировым научным тенденциям и вносит важный вклад в развитие молекулярной медицины.

Структура и объем диссертации

Диссертация В.А. Хотиной построена по традиционному плану и включает в себя титульный лист, оглавление, введение, основные разделы («Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов»), заключение, выводы, список сокращений и терминов, а также список цитируемой литературы. Материалы диссертации изложены на 193 страницах машинописного текста и включают 32 рисунка и 9 таблиц, которые иллюстрируют ключевые результаты исследования. Список используемой литературы состоит из 318 источников, из которых 22 являются отечественными, а 296 — зарубежными, что свидетельствует о широком охвате автором современных научных данных.

Во введении обоснована актуальность работы, поставлены цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Автором представлены основные положения, выносимые на защиту, охарактеризованы методы исследования и личный вклад. Кроме того, введение содержит сведения об апробации результатов исследования на международных конференциях и публикациях в высокорейтинговых журналах.

Обзор литературы, представленный в первой главе, соответствует теме диссертации и включает критический анализ современных данных о роли митохондриальной дисфункции в патогенезе атеросклероза. Автор акцентирует внимание на существующих пробелах в изучении молекулярных механизмов воспаления и митофагии, что обосновывает необходимость выполненного исследования.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает используемые подходы, включая редактирование митохондриального генома с использованием системы CRISPR/Cas9, методы молекулярной биологии, конфокальную микроскопию, проточную цитофлуориметрию и биохимические методы. Адекватность примененных методов подтверждается их соответствием поставленным задачам. Представленные схемы экспериментов и подбор методов статистической обработки данных свидетельствуют о высоком методологическом уровне работы. В диссертации использованы современные и корректные методы статистического анализа в зависимости от типа распределения.

Результаты исследования изложены на 38 страницах машинописного текста и структурированы в 13 подразделах, что позволяет последовательно раскрыть основные выводы. Описание полученных результатов проведено корректно и в полном соответствии с полученным фактическим материалом. Иллюстрации, представленные в виде таблиц и рисунков, полностью отражают и визуализируют полученные данные.

Обсуждение полученных результатов проведено детально. Автор критически

интерпретирует полученные данные, сопоставляя их с современными литературными сведениями, что позволяет установить реальную степень новизны и научно-практическую значимость диссертации.

Выводы логично вытекают из содержания работы, полностью соответствуют поставленным целям и задачам, а также подтверждаются полученным фактическим материалом. Автореферат диссертации отражает основные результаты исследования, написан научным языком и оформлен в соответствии с современными требованиями. Тексты автореферата и публикаций автора соответствуют тексту диссертации. Результаты работы были изложены и обсуждены автором на международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 26 работ, в том числе 9 статей в рецензируемых журналах (8 в рецензируемых иностранных журналах и 1 статья в рецензируемых журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК РФ) и 17 тезисов в сборниках докладов научных конференций.

В целом диссертация В.А. Хотиной представляет собой завершённое и логически структурированное исследование, результаты которого имеют значительную теоретическую и практическую значимость.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационной работы Виктории Александровны Хотиной могут быть непосредственно использованы в генной инженерии для изучения связи митохондриальной дисфункции с развитием хронического воспаления и атеросклероза. Выявление связи определенных митохондриальных мутаций с митохондриальной дисфункцией, провоспалительной, митотической, метаболической и синтетической активностью моноцитов/макрофагов указывает на их влияние на конкретные звенья патогенеза атеросклероза и определяет возможность соответствующей молекулярной терапии. Разработанные модификации цибридных линий могут быть использованы для моделирования патологических процессов, непосредственно влияющих на развитие атеросклероза, а также в экспериментальной фармакологии для разработки новых методов таргетной анти-атеросклеротической терапии.

Замечания

Замечаний по диссертации Хотиной Виктории Александровны нет. Экспериментальная и аналитическая работа в диссертации выполнена на высоком научном и методическом уровне, диссертация и автореферат содержат качественное табличное и графическое оформление.

Заключение

Диссертационная работа Хотиной Виктории Александровны «Изучение роли митохондриального генома в формировании проатеросклеротического фенотипа

моноцитоподобных клеток линии ТНР-1 и созданных на их основе цитоплазматических гибридов», является законченной научно-квалификационной работой, в которой автор решает актуальную для патологической физиологии задачу, доказывая связь митохондриальных мутаций (в частности, конкретной мутации в гене митохондриального цитохрома b) с функциональными последствиями, приводящими к формированию проатеросклеротического клеточного фенотипа.

По актуальности темы, новизне полученных данных и их научно-практической значимости, объему выполненных автором исследований диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 года № 842, в действующей редакции), а её автор, Хотина Виктория Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии № 3 Проблемной комиссии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» от 28.01.2025 г.

Заведующий отделом экспериментальной
медицины федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский
институт комплексных проблем сердечно-
сосудистых заболеваний», доктор
медицинских наук



Кутихин Антон Геннадьевич

Подпись Кутихина А.Г. заверяю:



Ученый секретарь федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский
институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний»,
кандидат медицинских наук



Казачек Яна Владимировна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ). Адрес: 650002, г. Кемерово, Бульвар имени академика Л.С. Барбараша, стр.6. Тел: 8(3842) 643-308. Факс: 8(3842) 643-410. e-mail: www.kemcardio.ru