

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д 002.230.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ **ХУДЯКОВА АЛЕКСАНДРА АЛЕКСАНДРОВИЧА**
НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 15 апреля 2016 г. № 208/387

О присуждении **ХУДЯКОВУ АЛЕКСАНДРУ АЛЕКСАНДРОВИЧУ** (Россия) учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT В РАЗВИТИИ АРИТМОГЕННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ НА МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК»**

по специальности 03.03.04 – "Клеточная биология, цитология, гистология"

принята к защите 29.01.2016 г., протокол № 203/382а Диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, адрес: 194064, Тихорецкой проспект, д. 4, Санкт-Петербург, Россия, утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Худяков Александр Александрович, 1989 года рождения, в 2012 г. окончил Биолого-почвенный факультет Санкт-Петербургского государственного университета с присвоением квалификации «магистр биологии». С 2011 г. по настоящее время работает младшим научным сотрудником Лаборатории молекулярной кардиологии в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Северо-западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова" Минздрава РФ. С 06.11.2012 по 05.11.2015 года проходил очную аспирантуру на базе Лаборатории молекулярной биологии стволовых клеток Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Диссертация выполнялась в порядке прохождения аспирантуры в Лаборатории молекулярной биологии стволовых клеток ФГБУН Институт цитологии Российской

академии наук и в Лаборатории молекулярной кардиологии ФГБУ “Северо-западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова” Минздрава РФ.

Научные руководители:

1. **ТОМИЛИН АЛЕКСЕЙ НИКОЛАЕВИЧ** доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией молекулярной биологии стволовых клеток Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург.
2. **МАЛАШИЧЕВА АННА БОРИСОВНА** кандидат биологических наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения “Северо-западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Официальные оппоненты:

1. **ЛАГАРЬКОВА МАРИЯ АНДРЕЕВНА**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией клеточной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения “Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства”, Москва.
2. **ПАРФЕНОВА ЕЛЕНА ВИКТОРОВНА**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории ангиогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва.

Дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, в своём положительном заключении (отзыв подготовлен заведующим Отдела молекулярной генетики, доктором медицинских наук, профессором Васильевым Вадимом

Борисовичем и ведущим научным сотрудником Отдела молекулярной генетики, доктором биологических наук, доцентом Мандельштамом Михаилом Юрьевичем и утверждён ВРИО директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» доктором медицинских наук, профессором Евгением Владимировичем Шайдаковым) указала, что диссертационная работа является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новый подход к решению актуальной научной задачи – исследованию сигнальных путей в дифференцирующихся клетках человека; диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 "Положения о присуждении ученых степеней" утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор, Худяков Александр Александрович, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 - "Клеточная биология, цитология, гистология", и

дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ по теме диссертации, из них 4 статьи (объемом 3 печ. листа) в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций, 9 статей в рецензируемых научных изданиях и 3 тезисов докладов.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Худяков А.А.**, Костина Д.А., Костарева А.А., Томилин А.Н., Малашичева А.Б. 2015. Влияние мутаций в гене плакофилина-2 на активность канонического сигнального пути Wnt. Цитология. 57: 868–875.

В статье впервые представлены данные о влиянии мутаций в гене плакофилина-2 на активность сигнального пути Wnt в ходе дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в направлении кардиомиоцитов.

2. Малашичева А.Б., Сабирова А.А., Козырев И.А., Головкин А.С., **Худяков А.А.**, Костарева А.А. 2015. Сравнительная характеристика стволовых клеток сердца, полученных из миокарда детей и взрослых. Региональное кровообращение и микроциркуляция. 14: 52–58.

В статье дана сравнительная характеристика клеток, получаемых из биопсийного материала миокарда человека.

3. **Худяков А.А.**, Курапеев Д.И., Костарева А.А., Малашичева А.Б. 2013.

Сравнение эффективности методов получения функционально активных кардиомиоцитов человека. Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. 8: 47–55.

В статье проведено сравнение различных подходов к получению кардиомиоцитов человека в культуре.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Заведующего Лабораторией эпигенетики развития Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, доктора биологических наук, профессора **Закияна Сурена Минасовича**. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Заведующего Лабораторией гибридной технологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава РФ, доктора медицинских наук, профессора **Климовича Владимира Борисовича**. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Заведующего Лабораторией клеточной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова», кандидата биологических наук **Филатова Михаила Валентиновича**. Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии принимали участие:

1. Доктор биологических наук **М. Г. Мартынова**, член Совета
2. Доктор биологических наук, профессор **М. И. Мосевичкий**, член Совета
3. Доктор биологических наук, **Б. В. Попов**, ведущий научный сотрудник ИНЦ РАН

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов, в области технологии индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, клеточной биологии, в частности исследования механизмов развития заболеваний с использованием современных методов клеточной биологии, для более объективной оценки полученных результатов, представленных в диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея, согласно которой развитие аритмогенной кардиомиопатии сопровождается изменением активности целого ряда сигнальных путей, включающего сигнальные пути Wnt, Hippo, Notch.

предложена оригинальная научная методика исследования механизмов аритмогенной кардиомиопатии при помощи анализа активности различных сигнальных путей в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК, полученных от пациентов с аритмогенной кардиомиопатией и здоровых доноров.

доказана возможность экзогенной экспрессии плакофиллина-2 дикого типа и его мутантных форм в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК.

введены новые представления, согласно которым уровень плакофиллина-2 дикого типа способен регулировать активность канонического сигнального пути Wnt.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, расширяющие существующие представления о сигнальной роли десмосомного белка плакофиллина-2 в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК и в первичных культурах клеток.

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных цитологических и молекулярно-биологических методов, включая технологию иПСК, флюоресцентную микроскопию, анализ активности репортерных конструкций, молекулярное клонирование, секвенирование, различные типы ПЦР и электрофорезов.

изложены новые экспериментальные данные о существовании плакоглобин-независимого механизма регуляции активности сигнального пути Wnt.

раскрыты особенности экспрессии ряда десмосомных белков в дифференцированных из иПСК кардиомиоцитах от пациентов с аритмогенной кардиомиопатией и здоровых донорах. Показано, что уровень плакофиллина-2 в этих клетках зависит от мутации, носителем которой является соответствующий пациент, а уровни плакоглобина и десмоглеина-2 не различаются между кардиомиоцитами от пациентов и здоровых доноров.

изучены особенности экспрессии и внутриклеточной локализации различных мутантных форм плакофиллина-2 в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК.

проведена оценка активности сигнального пути Wnt в первичных клеточных культурах, полученных от пациентов с аритмогенной кардиомиопатией и здоровых доноров.

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

разработана и внедрена в практику научного исследования методика исследования механизмов аритмогенной кардиомиопатии в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК, в том числе и на ранних стадиях дифференцировки.

определены перспективы применения теоретических результатов исследования для определения потенциальных мишеней фармакологической терапии аритмогенной кардиомиопатии.

представлены новые данные о различном характере активности канонического сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК от пациентов с аритмогенной кардиомиопатией, обусловленном различием мутаций, носителями которых они являются.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании (спектрофотометр BioTek Synergy2, электронный микроскоп Zeiss Libra 120, флюоресцентный микроскоп Zeiss AxioObserver D1, секвенатор Applied Biosystems Prism 3130, амплификатор Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System); выбор использованных методов обоснован поставленными в работе задачами;

теория о том, что в ходе кардиогенной дифференцировки иПСК, полученных от пациентов с АКМП, изменена активность сигнальных путей Wnt и Hippo построена на известных и проверенных литературных фактах и данных о вовлечённости этих сигнальных путей в развитие аритмогенной кардиомиопатии; данные, полученные из других источников, согласуются с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе современных литературных данных, а также на обобщении и анализе собственного экспериментального материала;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по тематике диссертации;

установлено, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение было обоснованным;

использованы современные экспериментальные подходы (получение и дифференцировка иПСК, введение трансгенов и репортеров в клетки, иммунохимические методы исследования, электронная микроскопия, анализ экспрессии генов методом ПЦР в режиме реального времени, методы геной инженерии, секвенирование ДНК).

Личный вклад соискателя состоит в

непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации полученных с применением современных цитологических и молекулярно-биологических методов исследования экспериментальных данных. Автор принимал непосредственное участие в апробации результатов исследований, подготовке и написании статей и тезисов по теме диссертации, представлял материалы диссертации на отечественных конференциях. Диссертация А. А. Худякова посвящена изучению изменения активности сигнального пути Wnt в ходе кардиогенной дифференцировки ИПСК от пациентов с аритмогенной кардиомиопатией с использованием цитологических и молекулярно-биологических методов и является оригинальным, законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием, полностью отвечающим требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

На заседании 15 апреля 2016 года Диссертационный Совет принял решение присудить **ХУДЯКОВУ АЛЕКСАНДРУ АЛЕКСАНДРОВИЧУ** учёную степень **кандидата биологических наук** по специальности 03.03.04 - "Клеточная биология, цитология, гистология".

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве **18** человек, из них **9** докторов по специальности рассматриваемой диссертации, учувствовавших в заседании, из **24** человек входящих в состав Совета, - проголосовали:

«ЗА» - 18, «ПРОТИВ» - НЕТ, недействительных бюллетеней - НЕТ.

Председатель

Диссертационного совета Д 002.230.01

доктор биологических наук, профессор



Юдин А. Л.

Учёный секретарь

Диссертационного совета Д 002.230.01,

кандидат биологических наук

Каминская Е. В.

18 апреля 2016 г.