

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д 002.230.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ **МИРОШНИКОВОЙ ВАЛЕНТИНЫ ВАДИМОВНЫ**
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение Диссертационного совета от 24 октября 2014 № 187/366

О присуждении **МИРОШНИКОВОЙ ВАЛЕНТИНЕ ВАДИМОВНЕ**
(Россия) ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация **«РОЛЬ ТРАНСПОРТЕРА ABCG1 И АПОЛИПО-
ПРОТЕИНА A-I В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К
АТЕРОСКЛЕРОЗУ»**

по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

принята к защите 30.05.2014 г., протокол № 182/361 Диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, адрес: Тихорецкий проспект, д.4., Санкт-Петербург 194064, Россия, утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Мирошникова Валентина Вадимовна, 1984 года рождения, в 2007 г. окончила физико-механический факультет Санкт-Петербургского государственного политехнического университета по специальности «Физика» (специализация «Биофизика»), с присвоением степени магистра. В 2007 – 2010 годах – очная аспирантура в Отделении молекулярной и радиационной биофизики Петербургского института ядерной физики

им. Б.П. Константинова РАН. Диссертация выполнена в порядке прохождения очной аспирантуры.

Работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» с 2010 года; с 2010 года по настоящее время – младший научный сотрудник Лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Диссертация выполнена в Лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Научный руководитель – доктор биологических наук **ШВАРЦМАН АЛЕКСАНДР ЛЬВОВИЧ**, заведующий Лабораторией молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Официальные оппоненты:

1. **ГОРБУНОВА ВИКТОРИЯ НИКОЛАЕВНА**, доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской генетики ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург.
2. **ЧЕРКАШИН ДМИТРИЙ ВИКТОРОВИЧ**, доктор медицинских наук, начальник кафедры военно-морской терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО России, Санкт-Петербург.

– дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук (заключение составлено заведующим Лабораторией пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, членом-корреспондентом РАН, доктором медицинских наук, профессором В.С. Барановым и старшим научным сотрудником Лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, кандидатом биологических наук А.С. Готовым и утверждено директором ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, академиком РАН, заслуженным деятелем науки РФ Э.К. Айламазяном) указала, что диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и соискатель заслуживает присуждения искомой ученой степени, и

– дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 36 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 16 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях. Во всех работах по теме диссертации вклад автора является определяющим.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Мирошникова, В. В.** Ассоциации генетических вариантов апопротеина А-1 с развитием атеросклероза у жителей Санкт-Петербурга / В. В. Мирошникова, Т. И. Родыгина, Е. П. Демина, П. С. Курьянов, С. А. Уразгильдеева, В. С. Гуревич, А. Л. Шварцман // Экологическая генетика. – 2010. – Т. 8. – № 2. – С. 24–28. В статье показано, что

носительство варианта *T83* гена *APOA1* снижает риск развития атеросклероза у жителей Санкт-Петербурга. Тем самым обосновываются выводы № 4 и 5 диссертации.

2. **Мирошникова, В. В.** Ассоциация полиморфных вариантов гена транспортера *ABCG1* с концентрацией холестерина плазмы крови при атеросклерозе / В. В. Мирошникова, А. А. Пантелеева, Е. П. Демина, П. С. Курьянов, В. Н. Вавилов, С. А. Уразгильдеева, В. С. Гуревич, О. В. Сироткина, А. Л. Шварцман // Медицинская генетика. – 2013. – Т. 12. – № 10. – С. 23–28. В статье продемонстрировано, что варианты *G(-134)* и *C(-204)* гена *ABCG1* характеризуются более высокими значениями концентрации общего холестерина плазмы крови. Влияния исследованных вариантов гена *ABCG1* на риск развития атеросклероза не выявлено. Тем самым обосновываются выводы № 3 и 5 диссертации.

3. **Мирошникова, В. В.** Влияние полиморфных вариантов гена аполипопротеина А-I на липидный спектр плазмы крови в популяции Санкт-Петербурга / В. В. Мирошникова, А. А. Пантелеева, С. Н. Пчелина, А. Л. Шварцман // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. – 2014. – Т. 21. – № 1. – С. 57–59. В статье доказано, что носительство варианта *T83* гена *APOA1* ассоциировано с повышением концентрации холестерина в составе липопротеинов высокой плотности плазмы крови у жителей Санкт-Петербурга и, таким образом, показана антиатерогенная роль варианта *T83* гена *APOA1*. Тем самым обосновывается вывод № 4 диссертации.

4. **Мирошникова, В. В.** Особенности экспрессии гена транспортера *ABCG1* в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с атеросклерозом / В. В. Мирошникова, Е. П. Демина, Н. В. Майоров, В. В. Давыденко, П. С. Курьянов, В. Н. Вавилов, А. Г. Виноградов, А. Д. Денисенко, А. Л. Шварцман // Цитология. – 2014. – Т. 56. – № 3. – С. 234–240. В статье показано, что в макрофагах, полученных при дифференцировке моноцитов в присутствии колониестимулирующего фактора макрофагов М-CSF, у пациентов с атеросклерозом снижен уровень

мРНК гена *ABCG1* и белка ABCG1. Продемонстрировано, что пациенты с окклюзиями артерий характеризуются пониженным уровнем мРНК гена *ABCG1* в моноцитах по сравнению с пациентами, не имеющими окклюзий, и по сравнению с контрольной группой. Тем самым обосновываются выводы № 1 и 2 диссертации.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Заведующей Лабораторией наследственных болезней обмена веществ ФГБУ Медико-генетический научный Центр РАМН, доктора медицинских наук **Е.Ю. Захаровой**. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Заведующей Отделом геномики ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного Центра РАН, доктора биологических наук, профессора **Э.К. Хуснутдиновой**. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Сотрудников Лаборатории физиологической генетики ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного Центра РАН: заведующей Лаборатории, доктора биологических наук, профессора **О.Е. Мустафиной** и старшего научного сотрудника, кандидата медицинских наук **Т.Р. Насибуллина**. Отзыв положительный, но содержит вопросы.
4. Ведущего научного сотрудника Отдела молекулярной генетики ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, доктора биологических наук, доцента **М.Ю. Мандельштама**. Отзыв положительный, без замечаний.
5. Директора Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, кандидата медицинских наук **А.А. Костаревой**. Отзыв положительный, без замечаний.
6. Заведующего Лабораторией молекулярной генетики наследственных болезней Института молекулярной генетики РАН, доктора биологических наук, профессора **П.А. Сломинского**. Отзыв положительный, без замечаний.

7. Заведующего областной научно-практической лабораторией ДНК-диагностики ГБУЗ «Новосибирский областной клинический диагностический центр», кандидата медицинских наук, члена-корреспондента РАЕН **А.Б. Масленникова**. Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии приняли участие:

1. Доктор медицинских наук, профессор **М.М. Шавловский**, член Совета
2. Доктор биологических наук, профессор **М.И. Мосевичкий**, член Совета
3. Доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской генетики **В.Н. Горбунова**, ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
4. Доктор биологических наук, профессор **Е.С. Корнилова**, член Совета

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области молекулярной биологии и генетики сердечно-сосудистых заболеваний и атеросклероза, к которой относится диссертационная работа.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработана** новая научная идея о значимости экспрессии гена транспортера *ABCG1* (*ABCG1*) в моноцитах и макрофагах в развитии и прогрессировании атеросклероза у человека, обогащающая научную концепцию о молекулярно-генетических механизмах элиминации холестерина из сосудистой стенки при атеросклерозе,
- **предложена** методика измерения экспрессии гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах с проатерогенным фенотипом, стимулированных колониестимулирующим фактором макрофагов (M-CSF), в целях изучения особенностей нарушений элиминации холестерина из сосудистой стенки,

– **доказаны** различия в уровне мРНК гена *ABCG1* в моноцитах у пациентов с различной тяжестью атеросклеротических повреждений сосудов; для пациентов с атеросклерозом характерен сниженный по сравнению с контрольной группой уровень мРНК гена *ABCG1* и белка ABCG1 в макрофагах, полученных при дифференцировке моноцитов в присутствии фактора M-CSF,

– **введены новые представления** о вкладе вариантов генов *ABCG1* и *APOA1* в межиндивидуальные вариации липидного профиля плазмы крови в исследуемой популяции.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– **доказаны** различия в уровне экспрессии гена *ABCG1* в норме и при патологии – атеросклерозе,

– **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс современных методов молекулярно-генетического анализа, включающий культивирование моноцитов и макрофагов, выделение ДНК и РНК, ПЦР, обратная транскрипция, ПЦР в реальном времени, иммуноблоттинг, а также методы статистической обработки данных (One-Way ANOVA, U-test Манна-Уитни, непараметрический критерий χ^2 и другие в пакете SPSS 17.0),

– **изложены** новые экспериментальные факты, показывающие, что варианты генов *ABCG1* и *APOA1* могут влиять на липидный спектр плазмы крови: аллели *G(-134)* и *C(-204)* гена *ABCG1* ассоциированы с более высокими уровнями общего холестерина, а вариант *T83* гена *APOA1* – с повышением уровня липопротеинов высокой плотности плазмы крови среди жителей Санкт-Петербурга,

– **раскрыты** особенности экспрессии гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах у пациентов с атеросклерозом, заключающиеся в том, что пациенты с окклюзиями артерий характеризуются пониженным уровнем мРНК гена *ABCG1* в моноцитах, активированных фактором M-CSF, по сравнению с пациентами, имеющими менее развитые атеросклеротические повреждения,

- **изучены** генетические факторы риска развития атеросклероза, детерминирующие уровень и способность ЛПВП к мобилизации холестерина из сосудистой стенки при атеросклерозе,
- **проведена** оценка вклада вариантов генов *ABCG1* и *APOA1* в формирование предрасположенности к атеросклерозу: выявлена ассоциация аллеля T83 гена *APOA1* со снижением риска развития атеросклероза у жителей Санкт-Петербурга.

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

- **разработано и внедрено в практикунаучного исследования** определение уровня мРНК гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах с проатерогенным фенотипом, стимулированных колониестимулирующим фактором макрофагов (M-CSF),
- **определены** перспективы возможного практического применения результатов исследования: для формирования групп повышенного риска развития атеросклероза (снижение экспрессии гена *ABCG1*), для оценки эффективности и подбора гиполипидемических средств (снижение экспрессии гена *ABCG1*, определение генотипов *ABCG1* и *APOA1*),
- **представлены** новые данные, показывающие, что снижение уровня экспрессии гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах может являться значимым фактором в развитии и прогрессировании атеросклеротического процесса.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- **результаты**, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании (CO₂ инкубатор фирмы Binder; прибор для ПЦР в реальном времени CFX96 Touch фирмы Bio-Rad), выбор использованных методов обоснован спецификой работы и поставленными в работе задачами, с учетом достаточного и репрезентативного объема выборок пациентов и контрольной группы (222 пациента с атеросклерозом и 382 индивидуума без сердечно-сосудистой патологии в случае скрининга генетического полиморфизма),

- **теория** нарушения элиминации холестерина из моноцитов-макрофагов при атеросклерозе, использованная в диссертационной работе, построена на известных и проверенных данных и фактах и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации,
- **идея** о значимости экспрессии гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах в развитии и прогрессировании атеросклеротического процесса базируется на обобщении и анализе полученных экспериментальных данных,
- **использовано** сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой 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 (культивирование моноцитов и макрофагов, выделение ДНК и РНК, ПЦР, обратная транскрипция, ПЦР в реальном времени, иммуноблоттинг), и адекватные методы статистической обработки результатов (One-Way ANOVA, U-test Манна-Уитни, непараметрический критерий χ^2 и другие в пакете SPSS 17.0).

Личный вклад соискателя состоит в:

Непосредственном участии соискателя в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации экспериментальных данных, полученных с применением современных методов исследования (культивирование моноцитов и макрофагов, выделение ДНК и РНК, ПЦР, обратная транскрипция, ПЦР в реальном времени, иммуноблоттинг). Автор принимал непосредственное участие в апробации результатов исследований, подготовке и написании статей и тезисов по теме диссертации, неоднократно представлял материалы диссертации на отечественных и зарубежных конференциях.

Диссертация охватывает основные вопросы, касающиеся роли транспортера *ABCG1* и аполипопротеина A-I в обратном транспорте

холестерина и элиминации холестерина из сосудистой стенки и, таким образом, в формировании предрасположенности к атеросклерозу, 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 03.01.03 – молекулярная биология.

На заседании 24.10.2014 г. Диссертационный совет решил присудить **МИРОШНИКОВОЙ ВАЛЕНТИНЕ ВАДИМОВНЕ** ученую степень **кандидата биологических наук.**

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве **19 человек**, из них **докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология – 7**, участвовавших в заседании из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

«ЗА» - 19, «ПРОТИВ» - НЕТ, недействительных бюллетеней – НЕТ.

Председатель

Диссертационного совета Д 002.230.01

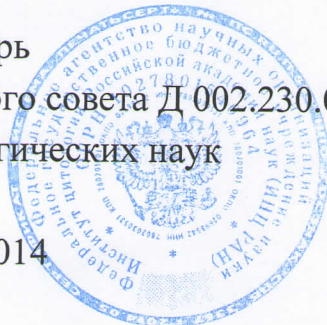
Доктор биологических наук, профессор

А.Л. Юдин

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 002.230.01

Кандидат биологических наук



Е.В. Каминская

«27» октября 2014