

**Заключение диссертационного совета 24.1.158.01 на базе  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего  
образования Российской Федерации по диссертации  
на соискание ученой степени кандидата наук**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 23 мая 2023 года № 177

О присуждении Игнатъевой Елене Владимировне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние мутаций гена ламина А G232E и R482L на дифференцировку и метаболизм клеток скелетной мускулатуры» по специальности 1.5.22 Клеточная биология принята к защите 21 февраля 2023 года, протокол № 176, диссертационным советом 24.1.158.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197022, ул. Акад. Павлова, д.12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель: Игнатьева Елена Владимировна, 1973 года рождения. В 1997 году окончила магистратуру биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета по программе «Биология клетки», с присвоением квалификации магистр биологии. Игнатьева Е.В. работает в Институте молекулярной биологии и генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» (ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова») Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2013 года. В период подготовки диссертации Игнатьева Е.В. работала в Институте молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» в должности младшего научного сотрудника, а с ноября 2021 года по настоящее время – в должности научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории молекулярного и клеточного

моделирования и генной терапии Научно-исследовательского центра неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний Научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины» ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова». Тема диссертации и кандидатура научного руководителя утверждена на заседании Ученого совета ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, протокол № 10 от 2 ноября 2021 года.

Диссертация выполнена в Институте молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург.

Научный руководитель: Дмитриева Рената Игоревна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы клеточной биологии Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург.

Официальные оппоненты:

1. Попов Даниил Викторович – доктор биологических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией физиологии мышечной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», г. Москва.

2. Пчелина Софья Николаевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией медицинской генетики, руководитель отдела молекулярно-биологических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной и клеточной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН), г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Болдыревой Лидией Валерьевной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории

клеточного деления ИМКБ СО РАН и утвержденном Демаковым Сергеем Анатольевичем, доктором биологических наук, директором ИМКБ СО РАН, указала, что диссертационное исследование является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методологическом уровне, в которой содержится решение актуальной задачи – выявление механизмов влияния мутаций гена *LMNA* G232E и R482L на функциональные свойства мышечных клеток.

Соискатель имеет 35 опубликованных работ (20 статей, 15 тезисов докладов), в том числе по теме диссертации 7 работ, среди которых 5 статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, входящих в реферативные научные базы данных RSCI/Scopus/Web of Science Core Collection. Результаты работы представлены на ряде российских конференций. Общий объем публикаций составляет 6 авторских печатных листов, авторский вклад составил 80%.

Наиболее значимые работы:

1. Ignatieva E. Skeletal Muscle Mitochondria Dysfunction in Genetic Neuromuscular Disorders with Cardiac Phenotype / Ignatieva E., Smolina N., Kostareva A., Dmitrieva R. // International Journal of Molecular Sciences – 2021. – Vol. 22 – № 14 – P.7349.

2. Ignatieva E.V. LMNA Mutations G232E and R482L Cause Dysregulation of Skeletal Muscle Differentiation, Bioenergetics, and Metabolic Gene Expression Profile / Ignatieva E.V., Ivanova O.A., Komarova M.Y., Khromova N. V., Polev D.E., Kostareva A.A., Sergushichev A., Dmitrieva R.I. // Genes – 2020. – Vol. 11, – № 9 – P.1057.

3. Perepelina K. Lamin A/C mutation associated with lipodystrophy influences adipogenic differentiation of stem cells through interaction with Notch signaling / Perepelina K., Dmitrieva R., Ignatieva E., Borodkina A., Kostareva A., Malashicheva A. // Biochemistry and Cell Biology – 2018. – Vol. 96 – № 3 – P.342-348.

4. Malashicheva A. Various lamin A/C mutations alter expression profile of mesenchymal stem cells in mutation specific manner / Malashicheva A., Bogdanova M., Zibirnyk A., Smolina N., Ignatieva E., Freilikhman O., Fedorov A., Dmitrieva R.,

Sjöberg G., Sejersen T., Kostareva A. // Molecular Genetics and Metabolism – 2015. – Vol. 115 – № 2–3 – P.118-127.

5. Богданова М.А. Роль ядерных ламинов А/С в остеогенной дифференцировке мультипотентных мезенхимных стромальных клеток / Богданова М.А., Гудкова А.Я., Забирник А.С., Игнатьева Е.В., Дмитриева Р.И., Смолина Н.А., Костарева А.А., Малашичева А.Б. // Цитология – 2014. – Т. 56 – №4 – С.260-267.

В диссертации не содержится некорректных заимствований и недостоверных сведений об опубликованных автором результатах исследований.

На автореферат диссертации поступили отзывы от:

1. Дубинина Михаила Васильевича, кандидата биологических наук, доцента кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет».

2. Петуховой Натальи Витальевны, кандидата биологических наук, руководителя научно-исследовательского центра биоинформатики научно-образовательного института биомедицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

3. Шувалова Олега Юрьевича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Лаборатории регуляции экспрессии генов и Лаборатории молекулярной медицины ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук.

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзывах подчеркивается адекватность дизайна исследования для решения поставленных задач, а именно валидность полученной экспериментальной клеточной модели и достоинства примененного в работе комплексного подхода, заключающегося в сочетании функциональных методов и анализа транскриптома. В отзыве М.В. Дубинина принципиальных замечаний к работе нет, есть комментарий, который не умаляет значимости работы. Автор отзыва предполагает, что диссертанту следовало более активно обсудить механизмы, ведущие к митохондриальной дисфункции в изучаемых мутантных моделях.

Диссертант дал исчерпывающие ответы на поставленные вопросы.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной и клеточной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН), г. Новосибирск, является одним из ведущих учреждений, занимающихся исследованиями организации хроматина и гетерохроматиновых районов, а также молекулярных механизмов, вовлеченных в эпигенетическую регуляцию экспрессии генов на периферии клеточного ядра, в которой непосредственно задействована ядерная ламина.

Выбор официальных оппонентов обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов и их широкой известностью в соответствующей области биологических наук. Попов Даниил Викторович, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией физиологии мышечной деятельности ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук» является одним из ведущих специалистов в области физиологии мышечной деятельности, включая исследования фундаментальных механизмов генной экспрессии в скелетной мускулатуре, в том числе на клеточных культурах (миобласты и миотубы). Пчелина Софья Николаевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией медицинской генетики, руководитель отдела молекулярно-биологических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России является ведущим специалистом в области молекулярно-генетических исследований механизмов развития основных заболеваний человека, в том числе с применением транскриптомного анализа клеточных популяций.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработана и охарактеризована экспериментальная клеточная модель скелетно-мышечных ламинопатий, которая предоставляет большие перспективы для изучения молекулярных механизмов действия мутаций ламина А и их функционального проявления в мышечных клетках; впервые проведена комплексная оценка изменений фенотипических**

свойств и транскриптома клеток скелетной мускулатуры в присутствии мутаций ламина А; **раскрыты новые механизмы** действия мутаций гена ламина А; **выявлены** как общие, так и специфичные для каждой мутации закономерности искажений экспрессионных профилей и **сопоставлены** с функциональными характеристиками клеточных моделей; **впервые получены** свидетельства митохондриальной дисфункции в скелетно-мышечных клетках в результате присутствия мутаций G232E и R482L ламина А; **сделаны заключения**, имеющие значение для дальнейших исследований механизмов действия и фенотипических проявлений многочисленных мутаций ламина А в скелетно-мышечных клетках.

**Теоретическая значимость** исследования заключается в том, что полученные результаты расширяют представление о молекулярных механизмах проявления мутаций ламина А и их влиянии на функциональные свойства клеток скелетной мускулатуры. Представленная работа является **первым комплексным исследованием** нарушений, вызванных присутствием мутаций *LMNA* G232E и R482L в мышечных клетках; **получены новые экспериментальные данные** об особенностях энергетического обмена клеток скелетной мускулатуры в присутствии мутаций ламина А; **впервые показано** разнонаправленное изменение биоэнергетики мышечных клеток под влиянием мутаций *LMNA*; **установлено** нарушение координации экспрессионных путей, регулирующих динамику клеточного цикла и миогенную дифференцировку, в присутствии мутаций гена ламина А; одновременно **проведена оценка** функциональных преобразований на клеточном уровне и **продемонстрировано** изменение пролиферативных свойств миобластов и морфологических характеристик дифференцированных миотрубок; **получены свидетельства** активации про-миогенной программы в миобластах, несущих мутантные ламины.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс разнообразных методов клеточной и молекулярной биологии, включая такие современные высокотехнологичные методы исследования как РНК-секвенирование и анализ клеточного метаболизма с применением технологии Seahorse, а также биоинформатический анализ; **раскрыты** изменения в экспрессии наборов генов, вовлеченных в регуляцию

миогенной дифференцировки и энергетического метаболизма; **изучены** особенности энергетического обмена в мышечных клетках в присутствии разных мутаций ламина А.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается** тем, что **создана экспериментальная база** для дальнейших исследований; **представлены** научные данные, подтверждающие различающееся влияние мутаций на метаболический фенотип мышечных клеток, что может служить диагностическим критерием для установления корреляции генотип-фенотип. Результаты исследования могут быть использованы для разработки новых методов при диагностике и лечении скелетно-мышечных ламинопатий.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты** получены на современном сертифицированном оборудовании; выбор методов обоснован спецификой исследований и соответствует поставленным в работе задачам; основные результаты получены с применением одновременно разных экспериментальных подходов, что увеличивает их достоверность и значимость; **теория** построена на известных, проверяемых данных об участии белков ядерной ламина в регуляции клеточных процессов и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации; **идея** базируется на анализе собственных экспериментальных данных и результатах, полученных ранее в Институте молекулярной биологии и генетики, а также на литературных материалах; **использованы** современные экспериментальные подходы и адекватные им методы анализа и статистической обработки результатов; объем проведенных экспериментов достаточен для получения статистически достоверных результатов; **установлено**, что результаты согласуются с данными литературы, представленными в независимых источниках по данной тематике.

**Личный вклад** соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Соискателем лично получена экспериментальная клеточная модель. Автором диссертации совместно с научным руководителем определено направление исследования и сформулированы его

цель и задачи. Автор принимал основное участие в планировании и выполнении экспериментов в соответствии с постановкой задач; получении, обработке и анализе полученных результатов. **Впервые проведено обобщение** имеющихся на сегодняшний день литературных данных относительно биоэнергетики скелетной мускулатуры при генетически детерминированных нервно-мышечных заболеваниях; результаты работы опубликованы в рецензируемом журнале. В свете результатов анализа литературы становится особенно очевидной актуальность полученных соискателем данных относительно метаболизма мышечных клеток в присутствии мутаций ламина А.

На заседании 23 мая 2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Игнатъевой Елене Владимировне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – 19, против – 1, недействительных бюллетеней – 2.

Заместитель председателя  
диссертационного совета, д.б.н.

Пигаревский П.В.

Ученый секретарь диссертационного  
совета д.б.н., доцент

Алешина Г.М.

23 мая 2023 г.

Подпись *Пигаревский П.В., Алешина Г.М.*  
Ведущий специалист *Егорова О.А.*