

**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 30 ноября 2021 г. № 155

О присуждении Черновой Ольге Николаевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Особенности строения и репаративного гистогенеза поперечнополосатой скелетной мышечной ткани у мышей с генетически обусловленным дефицитом дисферлина» по специальности 1.5.22. Клеточная биология принята к защите 21 сентября 2021 г., протокол № 147 диссертационным советом 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Чернова Ольга Николаевна 1992 года рождения.

В 2014 году соискатель окончила с отличием Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 060101 лечебное дело, получив квалификацию «врач», в 2019 году окончила аспирантуру на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет». С 2020 года Чернова О.Н. работает старшим преподавателем кафедры патологии и судебной медицины Частного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», ассистентом кафедры морфологии человека

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре морфологии и общей патологии Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Научный руководитель: кандидат медицинских наук, доцент Деев Роман Вадимович, заведующий кафедрой патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор Киясов Андрей Павлович, директор Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Интерпретация части полученных результатов вызвала необходимость привлечения в качестве консультанта высококвалифицированного специалиста в области изучения регенерации скелетных мышц, которым является профессор Киясов А.П.

Официальные оппоненты:

1) Одинцова Ирина Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии с курсом эмбриологии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации;

2) Загребин Валерий Леонидович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего

образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России), г. Казань, в своем положительном заключении, подписанном Челышевым Юрием Александровичем, доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, и утвержденным проректором по научной работе ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, доктором медицинских наук, профессором Абдулганиевой Дианой Ильдаровной, указала, что диссертационное исследование является самостоятельной законченной квалификационной научно-исследовательской работой, в которой содержится решение важной и актуальной задачи – изучению особенностей строения и репаративного гистогенеза скелетной мышечной ткани у животных с генетически обусловленной мышечной дистрофией.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью своими достижениями в рассматриваемой области медико-биологических наук.

Соискатель имеет 28 опубликованных работ, в том числе 4 работы по теме диссертации, которые опубликованы в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций общим объемом 4,4 условного печатного листа, авторский вклад составил 80%.

Наиболее значимые работы:

1. Чернова О.Н. Реактивные изменения элементов стромально-сосудистых дифферонов поперечнополосатой скелетной мышцы после повреждения новокаином в условиях дефицита дисферлина / О.Н. Чернова, М.О. Мавликеев, А.П. Киясов, И.Я. Бозо, Р.В. Деев // Бюллетень

экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – 11(170). – С. 646-650.

2. Чернова О.Н. Репаративный рабдомиогистогенез у мышей, мутантных по гену DYSF / О.Н. Чернова, М.О. Мавликеев, А.К. Зейналова, Р.В. Деев, А.П. Киясов // Гены и Клетки. – 2019. – №2. – С. 32-39.

3. Корсаков И.Н. Влияние аутологичных клеток десны, обладающих миогенным потенциалом, на регенерацию скелетной мышечной ткани / И.Н. Корсаков, Д.П. Самчук, А.А. Пулин, М.О. Мавликеев, О.Н. Чернова, А.А. Титова, Р.В. Деев, И.Я. Бозо, В.Л. Зорин, И.И. Еремин, О.В. Денисова, А.С. Карпухина, А.Ю. Городков, К.В. Котенко, П.Б. Копнин // Гены и Клетки. 2017. – Т. 12. – № 2. – С. 71-81.

4. Чернова О.Н. Экспериментальные модели для изучения регенерации поперечнополосатой скелетной мышечной ткани / О.Н. Чернова, И.Н. Корсаков, Д.П. Самчук, А.А. Пулин, М.О. Мавликеев, Р.В. Деев, И.И. Еремин // Гены и клетки. – 2015. – №4. – С. 127-140.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Лаврова Александра Вячеславовича, кандидата медицинских наук, ведущего научного сотрудника лаборатории редактирования генома Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»;

2. Павлова Артема Владимировича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

3. Сазонова Сергея Владимировича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

4. Фатхутдинова Тимура Хайсамутдиновича, доктора медицинских наук,

доцента, заместителя директора по научному развитию Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына»;

5. Чекмаревой Ирины Александровны, доктора медицинских наук, заведующей лабораторией электронной микроскопии патологоанатомического отделения Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

6. Швальба Александра Павловича, кандидата медицинских наук, заведующего судебно-гистологическим отделением Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы имени Д.И. Мастбаума».

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечена, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью соответствуют поставленным задачам.

В отзыве Лаврова Александра Вячеславовича принципиальных замечаний нет, есть ряд комментариев, которые относятся к формулировкам и не умаляют значимости работы:

1. Нет необходимости и обоснования использования ПЦР в режиме реального времени – проводится только генотипирование, а не количественная оценка, для чего достаточно обычной ПЦР.
2. Не указана мутация, которую подтверждали в экспериментальной линии мышей, приводящая в гомозиготном состоянии к нокауту гена *DYSF*.
3. Гены следует обозначать курсивом – *DYSF* – в отличие от их белковых продуктов.

Диссертант дал исчерпывающие ответы на эти комментарии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных

соискателем исследований:

доказано наличие особенностей гистогенеза поперечнополосатой скелетной мышечной ткани (ППСМТ) в условиях отсутствия белка дисферлина в виде ранних массивных некрозов мышечных волокон, гиперплазии и гипертрофии стромы, раннего истощения камбиальных резервов ткани. Выявленная **закономерность обогащает научную концепцию** о регенерации ППСМТ, **разработана новая экспериментальная методика** морфометрического анализа, позволившая выявить качественно новые закономерности гистогенетических процессов (пролиферация, миграция, специализация, дифференцировка, гибель) в состоянии генетически обусловленного дефицита того или иного, значимого для гистофизиологии ППСМТ белка. **Предложено оригинальное суждение** о том, что изменения в ультраструктуре скелетных мышц мышей с дисферлинопатией обнаружены в трех компонентах мышечных волокон: сарколемме, митохондриях и сократительном аппарате, при этом признаки повреждения мышечных волокон наблюдаются с первого дня жизни и в процессе постнатального онтогенеза возрастают.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что в течение постнатального онтогенеза скелетные мышцы нокаутных по гену *DYSF* мышей претерпевают ряд патоморфологических изменений, свойственных пациентам с дисферлинопатиями: появление центральоядерных и единичных некротизированных мышечных волокон (МВ) с пубертатного периода (соответствует возрасту 2-3 мес. у мышей), гипертрофия МВ с последующей их атрофией, липоидозом, снижение регенераторного потенциала скелетных мышц. **Установлено**, что в отсутствие дисферлина репаративный рабдомиогенез протекает медленнее, с большей долей некротизированных МВ и менее интенсивной пролиферацией и миогенной дифференцировкой.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс высокоинформативных гистологических методов (окрашивание по Маллори, иммуногистохимический метод, метод электронной микроскопии), молекулярно-генетических (метод полимеразной цепной

реакции для подтверждения наличия мутации в гене *DYSF*), а также морфометрических и статистических методов. **Изучены** ультра- и микроструктура ППСМТ у мышцей, мутантных по гену *DYSF*, в ходе онтогенеза и после химического повреждения; **изложены доказательства** того что дисферлин принимает участие не только в репарации мембраны мышечных волокон, но и в физиологических процессах в других клеточных дифферонах, присущих скелетной мышце как органу, что проявляется сниженной пролиферативной активностью клеток стромально-сосудистого компонента и менее активным ангиогенезом; **раскрыто**, что снижение сосудистой плотности в условиях дефицита дисферлина способствует ишемии скелетных мышц и усугублению ведущего патофизиологического процесса, развивающегося на тканевом и органном уровнях; **установлено**, что при введении миотоксического повреждающего агента в условиях напряженно протекающей физиологической и репаративной регенерации ППСМТ, обусловленной дефицитом дисферлина, развивается более обширный химический некроз, сопровождающийся сниженной пролиферацией эндотелиоцитов и клеток стромы и увеличенным фиброзом.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: **определены** перспективы дальнейших исследований по изучению физиологического и репаративного гистогенеза скелетной мышечной ткани в условиях дефицита того или иного структурного белка. **Предложено** использовать модель химического повреждения мышцы мышцей линии *Bla/J* в возрасте 5 месяцев с последующим морфометрическим анализом показателей альтерации, пролиферации, миогенной дифференцировки, васкуляризации и степени фиброза для оценки действия кандидатов для терапии дисферлинопатий.

Оценка достоверности результатов выявила, что: **результаты экспериментальных работ** получены на современном сертифицированном оборудовании, с использованием методов, адекватных поставленным задачам; **теории и идеи**, изложенные в работе, основаны на анализе экспериментальных данных, полученных автором, и их сравнении с результатами отечественных и

мировых исследований, а также анализе существующих представлений и гипотез по рассматриваемым вопросам; **установлено** качественное соответствие ряда полученных данных результатам, представленным в независимых отечественных и зарубежных источниках по данной тематике; **использованы** адекватные современные методы сбора и обработки исходной информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: подборе и анализе литературы, отражающей современное состояние выбранной области исследования, составлении плана экспериментальных исследований, и их выполнении, статистической обработке, интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе и апробации её результатов на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 30 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Черновой О.Н. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 9 докторов наук (4 д.б.н. и 5 д.м.н.) по специальности 1.5.22. Клеточная биология, из 32 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., чл.-корр. РАН



Шамова О.В.

Ученый секретарь диссертационного совета

д.б.н., доцент

Алешина Г.М.

30 ноября 2021 года