

**Заключение диссертационного совета Д 001.010.01 на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени
В.Н. Ореховича» по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 23 мая 2019 г. № 5

О присуждении Жирнику Александру Сергеевичу, гражданину РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Исследование противоопухолевой активности никлозамида и комбинированных воздействий с его использованием», по специальности 03.01.04 – «биохимия», принята к защите 21 февраля 2019 г., протокол № 2, диссертационным советом Д 001.010.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № 377/нк от 20.12.2018 г.

Соискатель Жирник Александр Сергеевич, 1993 года рождения.

В 2014 году соискатель Жирник Александр Сергеевич окончил ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России. В 2018 г. окончил очную аспирантуру по специальности 03.01.04 – «биохимия» при кафедре биологической химии лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории клеточной биологии и молекулярной медицины Отделения системной биологии и биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»).

Диссертация выполнена в лаборатории клеточной биологии и молекулярной медицины Отделения системной биологии и биомедицины ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» и на кафедре биологической химии лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Москалёва Елизавета Юрьевна, ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины Отделения системной биологии и биомедицины, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Гроздова Ирина Дмитриевна, доктор биологических наук, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, кафедра высокомолекулярных соединений, ведущий научный сотрудник;

Позднякова Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (ФГБУ «НМИЦ онкологии» им. Н.Н. Блохина), лаборатория радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, старший научный сотрудник,

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация – Московский научно-исследовательский онкологический институт (МНИОИ) имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ радиологии» (ФГБУ «НМИЦ радиологии») Минздрава России, гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном Сергеевой Натальей Сергеевной, доктором биологических наук, профессором, отделение «Прогноза эффективности консервативного лечения» МНИОИ имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, заведующая отделением, указала, что диссертационная работа Жирника А.С. является актуальным, оригинальным, законченным научным трудом, имеющим большое

научное и практическое значение для клеточной биологии и экспериментальной онкологии. Принципиальных замечаний не содержится.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 12 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 4.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Москалёва Е.Ю., Перевозчикова В.Г., Жирник А.С., Северин С.Е. Молекулярные механизмы противоопухолевой активности никлозамида // Биомедицинская химия. – 2015. – Т. 61. – № 6. – С. 680–693. (IF - 0.450 Scopus, 0.860 РИНЦ, ВАК). Статья представляет собой обзор литературных данных, касающихся изучения противоопухолевой активности никлозамида и молекулярных механизмов его действия. Соискатель участвовал в поиске отечественных и зарубежных источников литературы, написании разделов «1. Никлозамид и его свойства» и «4.1. Разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания», лично подготовил таблицу «Противоопухолевая активность никлозамида в отношении различных линий опухолевых и нормальных клеток человека, оцениваемая по значению IC₅₀».
2. Жирник А.С., Сёмочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю., Перевозчикова В.Г., Родина А.В., Северин С.Е. Антипролиферативная активность никлозамида в отношении клеток меланомы и колоректального рака // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. – Т. 50. – № 7. – С. 40–43. (IF - 0,862 РИНЦ, ВАК. {Переводная версия журнала «Pharmaceutical Chemistry Journal» индексируется WoS, IF – 0,679}). Статья посвящена изучению цитотоксической активности никлозамида в отношении нормальных и опухолевых клеток человека различных линий, в том числе опухолевых клеток, формирующих боковую популяцию (SP). Соискателем выполнены все эксперименты по исследованию влияния никлозамида на выживаемость нормальных (линии НЕК293, ЛЭЧ) и опухолевых (линии Mel-8, Mel-10, MS, Сасо-2, COLO 320 HSR, SW837, H69) клеток человека, полностью выполнена подготовка проб для исследования размера фракции клеток меланомы и колоректального рака человека, неокрашивающихся или слабо

окрашивающихся при инкубации с флуоресцентным красителем родамином-123, с помощью проточной цитофлуориметрии. Статья написана соискателем лично.

3. Жирник А.С., Сёмочкина Ю.П., Москалёва Е.Ю., Крылов Н.И., Тубашева И.А., Кузнецов С.Л., Воронцов Е.А. Молекулярные механизмы противоопухолевой активности полимерной формы никлозамида в отношении клеток колоректального рака // Биомедицинская химия. – 2017. – Т. 63. – № 2. – С. 132–138. (IF -0.450 Scopus, 0.860 РИНЦ, ВАК). Статья посвящена получению и характеристике противоопухолевой активности полимерной формы никлозамида в сравнении со свободным никлозамидом в отношении клеток колоректального рака человека и изучению молекулярных механизмов противоопухолевой активности этих препаратов на культурах клеток. Соискателем выполнена основная часть экспериментов по исследованию влияния никлозамида в свободной и полимерной форме на выживаемость лёгочных эмбриональных фибробластов и клеток колоректального рака человека, полностью осуществлена пробоподготовка образцов для проточной цитофлуориметрии (при исследовании уровня накопления родамина-123, содержания активных форм кислорода, распределения клеток по фазам клеточного цикла). Статья написана соискателем лично.

4. Жирник А.С., Никольская Е.Д., Жунина О.А., Сёмочкина Ю.П., Посыпанова Г.А., Кузнецов С.Л., Журило Н.И., Москалёва Е.Ю. Анализ накопления флуоресцентно меченных полимерных наночастиц на основе PLGA-PEG опухолевыми клетками человека // Российские нанотехнологии. – 2018. – Т. 13. – № 1–2. – С. 71–78. (IF - 0.822 РИНЦ, ВАК. {Переводная версия журнала «Nanotechnologies in Russia» индексируется Scopus, IF - 0.733}). Статья посвящена исследованию возможности проникновения и накопления частиц на основе сополимера поли-D,L-лактид-ко-гликолида и полиэтиленгликоля в клетках колоректального рака человека. Соискателем выполнено культивирование клеток и проведены все эксперименты по определению накопления флуоресцентно меченных полимерных частиц в опухолевых клетках. Соискателем написана основная часть статьи.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: официального оппонента Гроздовой Ирины Дмитриевны, доктора биологических наук, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, кафедра высокомолекулярных соединений, ведущий научный сотрудник, в котором отмечено, что диссертационная работа Жирника А.С. представляет собой законченное фундаментальное исследование, имеющее как теоретическое, так и практическое значение, однако возникают некоторые вопросы. В частности, если митохондрии – мишень никлозамида, то почему нормальные клетки более устойчивы к нему, чем опухолевые клетки; что известно о содержании АФК и МСОАН в нормальных клетках, всегда ли в опухолевых клетках их больше? Кроме того, в разделе работы, посвященном исследованию связывания аналогичных по составу ФИТЦ-меченых частиц, содержащих никлозамид, с клетками двух опухолевых линий, нет данных о контрольных экспериментах, которые позволили бы выяснить влияние никлозамида и ФИТЦ на процесс интернализации.

В отзыве официального оппонента Поздняковой Натальи Владимировны, кандидата биологических наук, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, лаборатория радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, старший научный сотрудник, отмечается высокий научно-методический уровень проведенного исследования, подробное и логичное описание полученных результатов, качественное оформление иллюстративного материала. Однако имеется ряд вопросов и пожеланий. Так, при постановке задач исследования и написании обзора литературы диссертанту следовало бы уделить большее внимание вопросам, связанным с исследованием действия никлозамида на организм животных в целом и на механизмы детоксикации и экскреции этого соединения; в обзоре литературы следовало бы уделить внимание изложению метаболизма фактора Wnt во внеклеточном пространстве, а также имеющимся в литературе многочисленным данным об иммуномодулирующей активности никлозамида, которая может вносить существенный вклад в его наблюдаемую противоопухолевую активность *in vivo*.

Однако сделанные замечания и возникшие вопросы носят дискуссионный характер и не снижают общей высокой оценки работы.

В положительном отзыве на автореферат Яббарова Никиты Григорьевича, кандидата биологических наук, Открытое акционерное общество «Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения», старший научный сотрудник, замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат Покровского Вадима Сергеевича, доктора медицинских наук, профессора, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», заведующий кафедрой биохимии им. академика Т.Т. Берёзова, отмечено не очень удачное название диссертации, которое не в полной мере отражает суть работы, кроме того, не очень наглядно представлены результаты эксперимента по сочетанному использованию никлозамида с цисплатином. Однако указанные замечания не являются принципиальными и не подвергают сомнению основные выводы работы.

В положительном отзыве на автореферат Авдони́на Павла Владимировича, доктора биологических наук, профессора, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, заведующий лабораторией физиологии рецепторов и сигнальных систем, в качестве замечания отмечается, что проведение исследования цитотоксической активности никлозамида с использованием одной культуры клеток с разным уровнем экспрессии белка MDR1 позволило бы сделать вывод о том, что эффективность действия препарата не зависит от увеличения экспрессии данного белка. Однако это замечание не умаляет достоинств диссертационной работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что доктор биологических наук Гроздова И.Д. является ведущим специалистом в области фармакологии противоопухолевых препаратов, а кандидат биологических наук Позднякова Н.В. является специалистом в области экспериментальной и клинической онкологии.

Московский научно-исследовательский онкологический институт (МНИОИ) имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России - один из ведущих научных центров, осуществляющий научные исследования в области онкологии и лечение всех видов онкологических заболеваний.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- Впервые показано, что клетки меланомы и клетки колоректального рака человека с фенотипом множественной лекарственной устойчивости, обусловленным высоким уровнем экспрессии белков MDR1 и Bcl-2, чувствительны к действию никлозамида.
- Впервые показана более высокая цитотоксическая активность полимерной формы никлозамида в отношении опухолевых клеток человека.
- Впервые показаны аддитивность действия никлозамида и цисплатина и синергизм действия полимерной формы никлозамида и цисплатина в отношении клеток меланомы мыши.
- Впервые установлено, что молекулярные механизмы противоопухолевого действия никлозамида в свободной и полимерной форме одинаковы и связаны с повреждением митохондрий и последующим развитием окислительного стресса.
- Обнаружен новый механизм радиосенсибилизирующего действия никлозамида в отношении клеток колоректального рака, заключающийся в ингибировании репарации двухнитевых разрывов ДНК.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что в работе представлены новые, ранее неизвестные характеристики цитотоксического действия никлозамида, установлена чувствительность к этому соединению некоторых опухолевых линий человека, обладающих лекарственно устойчивым фенотипом.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получение новых сведений о цитотоксической активности и механизмах действия антигельминтного препарата - никлозамида, открывает перспективы его эффективного применения, как в свободной, так и в

полимерной форме, в химиотерапии лекарственно устойчивых форм новообразований.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: достоверность результатов работы обеспечивается проведением экспериментов с достаточной воспроизводимостью; статистической обработкой полученных данных с заданной вероятностью и необходимым количеством повторных испытаний; сопоставлением полученных результатов с аналогичными результатами, полученными другими авторами. Результаты исследований были доложены на 7 международных и отечественных конференциях.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автором самостоятельно проведён сбор и анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой теме. Автор принимал непосредственное участие в планировании и постановке экспериментов, лично проводил необходимые расчёты и выполнял статистическую обработку и анализ полученных экспериментальных данных. Все статьи, подготовленные по результатам экспериментальных исследований, написаны автором лично.

На заседании 23 мая 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Жирнику Александру Сергеевичу учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.01.04 – «биохимия», участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18, против - 1, недействительных бюллетеней - нет.

Зам. председателя Диссертационного совета Д 001.010.01

доктор биологических наук, профессор

 Поройков В.В.

Ученый секретарь Диссертационного совета Д 001.010.01

кандидат химических наук

 Карпова Е.А.



23 мая 2019 года