

Заключение диссертационного совета Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Федерального агентства научных организаций России по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от «30» января 2018 г. № 97

О присуждении Суворовой Марии Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Противоопухолевое действие модифицированных штаммов *Streptococcus pyogenes* в экспериментальных моделях in vivo и in vitro» по специальностям «14.03.03. – патологическая физиология» и «03.02.03 – микробиология» принята к защите 21 ноября 2017 г., протокол № 92 диссертационным советом Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» ФАНО по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Суворова Мария Александровна, 1980 года рождения.

В 2002 году соискатель окончила Санкт-Петербургский государственный университет, в 2014 году – с отличием закончила Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена. В период подготовки диссертации (2013-2017 гг.) М.А. Суворова работала в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Институт экспериментальной медицины» в должности лаборанта-исследователя отдела иммунологии и была прикреплена к отделу иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» для подготовки диссертации без освоения программ аспирантуры.

Диссертация выполнена в отделе иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Научные руководители:

- 1) Киселева Екатерина Прохоровна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией иммунорегуляции отдела иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».
- 2) Ермоленко Елена Игоревна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биомедицинской микробиологии отдела молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Официальные оппоненты:

- 1) Савичева Алевтина Михайловна, профессор, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»
- 2) Иванов Вадим Александрович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией цитологии опухолевого роста Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, в котором проводятся исследования в области патогенеза и лечения различных видов злокачественных заболеваний, в том числе ведётся разработка альтернативных терапевтических средств.

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

В положительном заключении ведущей организации, подписанном Беспаловым В.Г., доктором медицинских наук, заведующим лабораторией химиопрофилактики рака и онкофармакологии, указано, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, представляющей интерес в поисках альтернативных подходов к терапии злокачественных заболеваний с использованием генно-модифицированных микроорганизмов; тематика диссертации актуальна.

Соискатель имеет 13 печатных работ, в том числе по теме диссертации публикации – 5 статей и 8 тезисов докладов – общим объемом 5,75 условного печатного листа, авторский вклад составил 75%, 4 статьи по теме диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций. Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы:

1. Суворова М.А., Крамская Т.А., Дуплик Н.В., Черешнев В.А., Грабовская К.Б., Ермоленко Е.И., Суворов А.Н., Киселева Е.П. Влияние инактивации гена М-белка на противоопухолевые свойства живых *Streptococcus pyogenes* в эксперименте //Вопросы онкологии. - 2017. - Т.63, №5. - С. 65-69.
2. Суворова М.А., Крамская Т.А., Суворов А.Н., Киселева Е.П. Инактивация гена белка M111 влияет на взаимодействие *Streptococcus pyogenes* с макрофагами мышей *in vitro* //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2017. - Т.164, №9. - С.330-334.
3. Суворова М.А., Цапиева А. Н., Дуплик Н. В., Крамская Т. А., Грабовская К. Б., Киселёва Е. П., Черешнев В. А., Суворов А. Н. Конструирование

- штамма стрептококка, мутантного по М-белку //Медицинский академический журнал. - 2016. - Т.16, №4. - С.235-236.
4. Суворова М.А., Крамская Т.А., Карасева А.Б., Мухин В.Н., Ермоленко Е.И., Суворов А.Н. Инактивация гена аргининдеиминазы стрептококков снижает степень их противоопухолевой активности *in vitro* и *in vivo* //Медицинский академический журнал. - 2017. - Т.17, №1. - С.96-101.
 5. Suvorova M., Tsapieva A., Bak E, Chereshev V., Kiseleva E., Suvorov A., Arumugam M. Complete genome sequences of *emm111* type *Streptococcus pyogenes* strain GUR with anti-tumor activity and it's derivate strain GURSA1 with inactivated *emm* gene //Genome Announcements. - 2017. - Vol. 5, Issue 38. - e00939-17. doi:10.1128/genomeA.00939-17.

На автореферат поступили отзывы от:

1. Злобина В.И., академика РАН, д.м.н., профессора, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии. Директор НИИ Биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»
2. Заславской М.И., д.б.н., доцента, профессора кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия»
3. Левашова П.А., к.х.н., с.н.с. Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
4. Зурочки А.В., д.м.н., профессора, в.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН
5. Климовича В.Б., д.м.н., профессора, заведующего лабораторией гибридной технологии ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. академика А.М. Гранова»
6. Рощиной Н.Г., к.б.н., заведующей лабораторией идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о возможности использования живых патогенных микроорганизмов с инаktivированными генами вирулентности для терапии злокачественных заболеваний; **предложена** оригинальная научная гипотеза о возможности усиления противоопухолевого эффекта стрептококков за счет инаktivации М-белка штамма «Гуров», в результате чего повышаются адгезивные свойства бактерий, происходит усиление прямого цитотоксического действия в отношении клеток опухоли, а также активируется продукция активных форм кислорода макрофагами; **доказано** повышение выживаемости животных-опухоленосителей и задержка опухолевого роста при использовании штамма с инаktivированным М-белком по сравнению с исходным; **введены** новые представления о структуре М-белка *S.pyogenes* серотипа 111 и его анти-адгезивных и анти-фагоцитарных свойствах.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Доказано усиление противоопухолевой активности штамма *S.pyogenes* (GURSA1) по сравнению с исходным штаммом на модели мышинной перевиваемой гепатомы 22a in vivo и in vitro; **применительно к проблематике диссертации результативно** использован широкий спектр микробиологических, иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования; **изложены** доказательства более высокой противоопухолевой активности штамма *S.pyogenes* (GURSA1) с инаktivированным геном *ett* по сравнению с исходным штаммом в отношении перевиваемой линии гепатомы 22a и саркомы S37 мышей, а также **приведены** факты стимуляции выработки активных форм кислорода при сокультивировании данного штамма с макрофагами интактных мышей и снижении выработки макрофагами ангиогенного цитокина IL-17, а также

снижении продукции противовоспалительного цитокина IL-10; **изучены** адгезивные свойства штамма GURSA1 к клеткам перевиваемой гепатомы 22а, во многом объяснившие более высокую эффективность мутанта по сравнению с исходным штаммом; **получены сведения** о способности *S.pyogenes* сохранять жизнеспособность внутри опухоли более 5 дней без потери интегрированной в геном плазмиды; **проведено** полногеномное секвенирование двух штаммов *S.pyogenes* (исходного и модифицированного).

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

определены перспективы использования живых *S.pyogenes* с инактивированным геном М-белка для лечения злокачественных опухолей в эксперименте; **представлены** результаты полногеномного секвенирования исходного и модифицированного штаммов, определена структура М-белка серотипа 111; **предложено** использовать материалы настоящей работы при дальнейшем изучении механизмов противоопухолевого действия стрептококков против различных типов опухолей в эксперименте. Результаты исследования создают основу для дальнейшего изучения механизмов противоопухолевого действия живых *S. pyogenes* как потенциальных средств терапии опухолевых заболеваний человека.

Оценка достоверности результатов выявила:

результаты экспериментальных работ получены на современном сертифицированном оборудовании, с использованием методов, адекватных поставленным задачам; воспроизводимость результатов показана в достаточном числе независимых экспериментов; **теории и идеи**, изложенные в работе, базируются на анализе полученных автором экспериментальных данных, их сравнении и обобщении с результатами, приводившимися ранее в независимых литературных источниках, и анализе существующих представлений по рассматриваемым вопросам; **установлено** качественное соответствие ряда полученных данных результатам, представленным в

независимых источниках по данной тематике; **использованы** адекватные современные методы сбора и обработки исходной информации.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии во всех этапах процесса выполнения диссертационной работы: подборе и анализе литературы по теме диссертации, составлении плана экспериментальных исследований, самостоятельном их выполнении, статистической обработке полученных данных, анализе и интерпретации результатов, их трактовке и обобщении, подготовке публикаций по выполненной работе и апробации её результатов на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 30 января 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Суворовой М.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 29 человек, из них 15 докторов наук по специальности 14.03.03. – патологическая физиология и 3 доктора наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 33 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали:

За – 28, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., доцент

Шамова О.В.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.б.н., доцент

Алешина Г.М.

Подпись

Удостоверяется

Нач.отд.кадров ФГБНУ «И

