

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 9 ноября 2021 г. № 152.

О присуждении Чернову Александру Николаевичу, гражданину Республики Беларусь, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эффекты фактора роста нервов и пептидов врожденного иммунитета, а также их комбинаций с химиопрепаратами, на клетки опухолей мозга *in vitro*», по специальности 3.3.3 Патологическая физиология принята к защите 7 сентября 2021 г. (Протокол № 142) 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. Академика Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель – Чернов Александр Николаевич, 1981 года рождения. В 2005 году соискатель окончил Белорусский государственный университет, получив квалификацию специалиста по направлению Биология, в 2012 году окончил очную аспирантуру на базе Института подготовки научных кадров Национальной академии наук Беларуси. После окончания аспирантуры Чернов А.Н. работал до 2016 г. научным сотрудником Института физиологии НАН Беларуси, затем в 2017-2019 гг. – научным сотрудником центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, с 2020 г. по настоящее время – научным сотрудником отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования России.

Основная часть диссертационной работы выполнена в отделе общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования России.

Научный руководитель: доктор биологических наук, член-корреспондент Российской академии наук Шамова Ольга Валерьевна, заведующая отделом общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования России.

Официальные оппоненты:

1) Арутюнян Александр Варганович – доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»;

2) Мацко Марина Витальевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела, врач-онколог Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» (ФГБОУ ВО СПбГПМУ) Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, в своём положительном заключении, подписанном Поляковой Викторией Олеговной, доктором биологических наук, профессором кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии и утверждённым ректором ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России доктором медицинских наук, профессором Ивановым Дмитрием Олеговичем, указала, что диссертационное исследование является самостоятельной законченной

квалификационной научно-исследовательской работой, в которой содержится решение важной и актуальной проблемы патологической физиологии – изучение цитотоксических эффектов соединений, относящихся к классу физиологически активных молекул – ростовых факторов и пептидов врожденного иммунитета на клетки опухолей мозга человека и животных.

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

Соискатель имеет 30 публикаций, в том числе 12 работ по теме диссертации, которые опубликованы в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций общим объемом 11,39 условных печатных листов, авторский вклад составил 90%.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы:

1. Kulchitsky, V.A. Improving the efficiency of chemotherapeutic drugs by the action on neuroepithelial tumors // Glioma – exploring its biology and practical relevance / V.A. Kulchitsky, M.V. Talabaev, A.N. Chernov, [et al.]; Intech ; ed.: A. Ghosh. – Rijeka (Croatia), 2011. – Chap. 21. – P. 465–486.
2. Kulchitsky, V.A. Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs and heterocyclic compounds at application on cells of primary culture of neuroepithelium tumors / V.A. Kulchitsky, V.I. Potkin, Y.S. Zubenko, A.N. Chernov, [et al.] // J. of Med. Chemistry. – 2012. – Vol. 8, № 1. – P. 22–32.
3. Chernov, A.N. Related expression of TRKA and P75 receptors and the changing copy number of MYC oncogenes determine the sensitivity of brain tumor cells to the treatment of the nerve growth factor in combination with cisplatin and temozolomide / A.N. Chernov, D.A. Alaverdian, O.S. Glotov, [et al.] // Drug Metabolism and Personalized Therapy. 2020.Sep 16;/j/dmdi.ahead-of-print/dmdi-2020-0109/dmdi-2020-0109.xml. doi: 10.1515/dmdi-2020-0109.

4. Chernov, A.N. The phenomenon of multidrug resistance in glioblastomas / Chernov A.N., Alaverdian D.A., Galimova E.S, [et al.] // Hematology/Oncology and Stem cell Therapy. 2021; <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2021.05.006>.
5. Чернов, А.Н. Соотношение рецепторов TRKA и P75 на клетках нейроэпителиальных опухолей – новая мишень воздействия комбинаций фактора роста нервов с цисплатином или темозоломидом / А.Н. Чернов // Опухоли головы и шеи. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 58-66.
6. Чернов, А.Н. Ультраструктурные корреляты механизмов обособленного и комбинированного действия цисплатина, темозоломида, фактора роста нервов на клетки астроцитомы и медуллобластомы человека/ А.Н. Чернов // Трансляционная медицина. – 2019. – № 1. – С. 28-42.
7. Чернов, А.Н. Разработка варианта метода оценки индивидуальной чувствительности клеток нейроэпителиальных опухолей к химиопрепаратам в *in vitro* / А. Н. Чернов, В. Н. Калюнов, Н. Е. Конопля // Злокачественные опухоли. – 2015. – Т. 3. – С. 40-52.
8. Чернов, А.Н. Цитотоксическое избирательное действие комбинаций фактора роста нервов с химиопрепаратами на культуры клеток нейроэпителиальных опухолей и нейроглиальной ткани человека / А.Н. Чернов // Вестник Воронежского гос. университета. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 4. – С. 157-164.

На автореферат поступили отзывы от:

- Александрова Михаила Всеволодовича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией клинических исследований в нейрохирургии и неврологии Российского научно-исследовательского нейрохирургического института им. проф. А.Л. Поленова, филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Кашеевой Татьяны Константиновны, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника отдела геномной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»;

- Савченко Андрея Анатольевича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук».

- Чухловина Алексея Борисовича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией трансплантологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

доказано наличие у фактора роста нервов (NGF), пептидов врожденного иммунитета семейства кателицидинов (LL-37 человека и протегрина PG-1 свиньи), а также их комбинаций с химиопрепаратами, цитотоксических эффектов в отношении клеток опухолей мозга (глиомы С6 крысы и глиомы U251 человека), а также проявление выраженного цитотоксического действия NGF с химиопрепаратами на клетки пилоцитарной астроцитомы, анапластической астроцитомы, глиобластомы и медуллобластомы человека; **выявленные эффекты и корреляционные зависимости обогащают научную концепцию** об участии определенных ростовых факторов и пептидов системы врожденного иммунитета в процессе ограничения опухолевого роста в мозге человека и животных; **разработана новая научная идея** о многоплановом действии фактора роста нервов, который, оказывая цитотоксический эффект на клетки интракраниальных опухолей в комбинации с химиопрепаратами, снижает повреждающее действие химиопрепаратов в отношении нормальных клеток мозга человека (*in vitro*); **предложено оригинальное суждение** о том, что цитотоксический эффект NGF на клетки медуллобластомы человека обусловлен экспрессией на них p75 рецептора, а также снижением численности копий *MYC*-онкогена.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: изученные цитотоксические эффекты NGF, кателицидина LL-37 и протегрина PG-1 и их комбинаций с химиопрепаратами на клетки опухолей мозга, позволяют расширить представления о спектре биологической активности ростовых факторов и пептидов системы врожденного иммунитета, а также о механизмах их взаимодействия с химиопрепаратами, имеющих различные мишени в опухолевых клетках. Полученные данные способствует выявлению новых возможностей для коррекции патологического процесса и снижения токсических эффектов химиопрепаратов на здоровые клетки организма человека. Новые теоретические знания могут служить основой прикладных исследований, направленных на разработку новых препаратов и схем терапии данной группы опухолей у человека и животных.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс высокоинформативных методов (иммуноферментный, иммунофлуоресцентный, спектрофотометрический, FISH анализ, МТТ-тест, метод электронной микроскопии, проточной цитофлуорометрии и др.), а также статистических методов. **Определены** пути клеточной гибели (апоптоз, некроз) клеток пилоцитарной астроцитомы, медуллобластомы и глиомы U251 человека при сочетанном действии NGF с цисплатином или темозоломидом, а также комбинации PG-1 с этопозидом; **показано**, что добавление NGF к химиопрепаратам снижает их цитотоксический эффект на клетки здоровой ткани мозга; **изложены доказательства** того, что комбинации PG-1 с карбоплатином, доксорубицином, а также LL-37 с этопозидом проявляют синергетические цитотоксические эффекты в отношении клеток глиомы С6, а при совместном применении PG-1 с этопозидом имеет место синергетическое цитотоксическое действие на клетки глиомы человека U251; при действия NGF на клетки медуллобластомы наблюдается уменьшение численности клеток, содержащих аномально повышенное количество копий *MYCC*-, *MYCN*-онкогенов и повышение количества опухолевых клеток, содержащих диплоидный набор копий генов *MYCC* и *MYCN*; **обнаружены корреляционные зависимости** уровня секреции IL-6 клетками пилоцитарной, анапластической

астроцитомы, эпендимомы, глиобластомы и медуллобластомы со степенью злокачественности опухолей, их чувствительностью к химиопрепаратам и NGF; уровня экспрессии рецепторов TrkA и p75 на клетках анапластической астроцитомы и глиобластомы с их чувствительностью к воздействию NGF в комбинации с цисплатином или темозоломидом; среднего количества копий *MYCC* онкогена и индекса цитотоксичности NGF.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: использование комбинаций NGF, LL-37 и PG-1 с химиопрепаратами, проявляющих синергетическое цитотоксическое действие на опухолевые клетки, может повысить эффективность терапии злокачественных опухолей мозга, а также снизить дозы химиопрепаратов, что уменьшит их токсические эффекты на организм пациента.

Определение уровня IL-6 в крови пациентов с опухолями мозга может дать информацию о степени злокачественности опухоли и ее чувствительности к химиотерапии. Определение соотношения уровней экспрессии рецепторов TrkA и p75 на клетках анапластической астроцитомы и глиобластомы позволяет рассматривать данный показатель в качестве маркера ответа опухолевых клеток на действие комбинаций NGF с цисплатином или темозоломидом. Оценка численности копий *MYCC*-, *MYCN*-онкогенов в медуллобластомах позволяет рассматривать этот показатель в качестве маркера резистентности опухоли к NGF и химиотерапии; **предложено** проводить *in vitro* оценку персональной чувствительности клеток интракраниальных опухолей пациентов к химиопрепаратам для выбора наиболее эффективного препарата и схемы терапии у данного пациента и исключения заведомо неэффективных химиопрепаратов.

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** количественное 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 9 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Чернову А.Н. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 13 докторов наук (7 д.б.н. и 6 д.м.н.) по специальности 3.3.3 Патологическая физиология, из 32 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – 21, против – 1, недействительных бюллетеней – 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета, д.б.н.

Пигаревский П.В.

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

Алешина Г.М.

9 ноября 2021 г.

Подпись *Пигаревского П.В.*
Алешинской Г.М.
Удостоверяется
Специалист по кадрам ФГБНУ «ИЭМ»

