

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.158.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 25 мая 2023 г. № 118

О присуждении Елизаровой Анне Юрьевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Комплекс лактоферрина с олеиновой кислотой: платформа для создания противоопухолевых препаратов»

по специальности 1.5.4. – Биохимия принята к защите 20 апреля 2023 г. (протокол заседания № 110) диссертационным советом 24.1.158.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д.12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Елизарова Анна Юрьевна, 28 января 1992 г. рождения. В 2015 году Елизарова А.Ю. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» по специальности «Техническая физика». С апреля 2014 года по настоящее время работает в лаборатории клеточных и протеомных технологий Отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» в должности научного сотрудника. С 2015 по 2019 год обучалась в аспирантуре этого же учреждения по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки, по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Диссертация Елизаровой Анны Юрьевны выполнена в ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Научный руководитель – доктор биологических наук Соколов Алексей Викторович – заведующий лабораторией биохимической генетики, которая входит в состав Отдела молекулярной генетики.

Официальные оппоненты: Гужова Ирина Владимировна – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», лаборатория защитных механизмов клетки, заведующий лабораторией; Самойлович Марина Платоновна – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория гибридной технологии, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории, **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 своем положительном отзыве, подписанном заведующим Научного отдела биологии опухолевого роста ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» членом-корреспондентом РАН, д.м.н., профессором Имянитовым Евгением Наумовичем, утверждённом и.о. директора этого же учреждения Киричуком Сергеем Васильевичем 7 марта 2023 г., указала, что диссертация «является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для биохимии - получение и всесторонний анализ свойств нового токсичного по отношению к опухолевым клеткам комплекса, содержащего лактоферрин человека и олеиновую кислоты».

Соискатель имеет 35 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, 2 из которых – статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 – в журналах, входящих в международные базы Scopus и Web of Science, 13 тезисов в сборниках научных трудов по материалам конференций.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Соколов, А.В. Взаимодействие церулоплазмينا с комплексом лактоферрина и олеиновой кислоты / А.В. Соколов, **А.Ю. Власенко**, В.А. Костевич, Э.А. Старикова, Е.Т. Захарова, В.Б. Васильев // Медицинский Академический Журнал. – 2016. – Т. 16, № 4. С 233-234. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 2 страницы. Вклад соискателя: проведено планирование эксперимента, определение цитотоксической активности комплекса с олеиновой кислотой в отношении зрелых неопухолевых клеток, определение противоопухолевой активности комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой методами проточной цитофлуориметрии, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 70 %).

2. **Елизарова А.Ю.** Лактоферрин как перспективное средство в терапии метаболического синдрома: от молекулярных механизмов до клинических испытаний / А. Ю. Елизарова, В. А. Костевич, И. В. Войнова, А. В. Соколов // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 45-64. Вид работы: статья в журнале (Аналитический обзор). Объем публикации: 19 страниц. Вклад соискателя: аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы, подготовка публикации (авторский вклад составил 70 %).

3. Lebedev, D.V. Effect of alpha-lactalbumin and lactoferrin oleic acid complexes on chromatin structural organization / D.V. Lebedev, Y.A. Zabrodskaya, V. Pipich, A.I. Kuklin, E. Ramsay, A.V. Sokolov, **A.Y. Elizarova**, A. Shaldzhyan, N.A. Grudinina, R.A. Pantina, B. Wu, T.A. Shtam, A.V. Volnitskiy, A.E. Schmidt, A.V. Shvetsov, V.B. Vasilyev, , V.V. Isaev-Ivanov, V.V. Egorov // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2019. – Vol. 29, № 4. – P.

691-704. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 4 страницы. Вклад соискателя: подготовка комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой, оценка цитотоксической активности комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой в отношении зрелых неопухолевых клеток (авторский вклад составил 30 %).

4. **Elizarova, A.** Interaction of Lactoferrin with Unsaturated Fatty Acids: In Vitro and In Vivo Study of Human Lactoferrin/Oleic Acid Complex Cytotoxicity / A. Elizarova, A. Sokolov, V. Kostevich, E. Kisseleva, E. Zelenskiy, E. Zakharova, O. Panasenko, A. Budevich, I. Semak, V. Egorov, G. Pontarollo, V. De Filippis, V. Vasilyev // *Materials (Basel)*. – 2021. – Vol. 14, № 7. – P. 1602-1619. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 17 страниц. Вклад соискателя: проведено планирование эксперимента, анализ спектральных характеристик лактоферрина и его комплекса с олеиновой кислотой, определение противоопухолевой активности лактоферрина и его комплекса с олеиновой кислотой в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 75 %).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. Осипова Анатолия Николаевича – члена-корреспондента РАН, д.б.н., заведующего Отделом биофизики НИИ Трансляционной медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова. В отзыве отмечается, что «данная работа находится на стыке биохимии, биофизики, клеточной биологии и экспериментальной онкологии, предлагая новый вариант цитотоксического агента, состоящего из двух компонентов естественного происхождения, который исследовался как на культурах клеток, так и на модели роста опухоли у мышей в эксперименте».

2. Гудкова Сергея Владимировича – доктора медицинских наук, профессора РАН, руководителя Центра биофотоники Института общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук. Отзыв

положительный. В нём отмечается, что «Несмотря на позитивное впечатление, в автореферате присутствует небольшое количество орфографических ошибок. Так, у первого оппонента при указании должности перепутан род. Латинская фраза “in vitro” не всегда написана не курсивом (например, в публикации 4). Что касается сутевой части, то на мой взгляд, диссертант обязан более тщательно пояснять вывод 7. Меня смущает тот факт, что комплекс лактоферрина человека с олеиновой кислотой, по мнению автора препятствовал гибели мышей, хотя статистически достоверных изменений нет. Замечание является дискуссионным и не влияет на общую положительную оценку работы».

3. Кондаковой Ирины Викторовны – доктора медицинских наук, профессора, заведующего Лабораторией биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук». В отзыве отмечается, что «диссертационная работа актуальна, обладает научной новизной, практической и теоретической значимостью».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывался высоким уровнем их профессиональной компетенции, наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, которые посвящены изучению стресс-индуцированных молекул в онкологии, проблеме резистентности опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям, а также направлены на изучение нового вида терапии опухолей, устойчивых к действию широкого круга препаратов, основанном на применении ингибиторов белков теплового шока.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан новый метод получения комплексов белков с жирными кислотами, в частности, комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой, основанный на ступенчатом (порционном) добавлении к белку этанольного

раствора жирной кислоты при постоянном смешивании при комнатной температуре с последующим удалением следов этанола диализом и фильтрацией раствора комплекса через стерилизующие фильтры;

предложен простой вариант анализа цитотоксичности комплексов лактоферрина с олеиновой кислотой, основанный на их способности индуцировать лизис эритроцитов человека;

доказана противоопухолевая активность комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой, как в опытах *in vitro*, так и при парентеральном введении мышам с подкожно перевитыми опухолями.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказан вклад процессов апоптоза и некроза в реализацию цитотоксической активности комплексов лактоферрина с олеиновой кислотой; полученные данные являются предпосылкой для более детального изучения индукции программируемой клеточной гибели опухолевых клеток комплексами, содержащими лактоферрин и ненасыщенные жирные кислоты; применительно к проблематике диссертации результативно использованы различные современные биохимические, биофизические и иммунохимические методы, а также статистический анализ; изложены данные об изменении физико-химических свойств лактоферрина в комплексе с олеиновой кислотой и предложена гипотеза о наиболее вероятной структуре такого комплекса; раскрыт принцип избирательного взаимодействия лактоферрина с ненасыщенными жирными кислотами; выявлен ингибирующий потенциал белка острой фазы воспаления, церулоплазмينا, на цитотоксичность и провоспалительную активность комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: полученные данные расширяют представление о противоопухолевой активности комплексов «белок/жирная

кислота» и являются предпосылкой для более детального изучения свойств и механизмов цитотоксической активности комплексов на основе лактоферрина. Предлагаемый в работе метод получения комплекса между белком и жирной кислотой легко масштабируется в соответствии с необходимым выходом комплекса и может быть модифицирован для использования других белков или другого молярного отношения жирной кислоты к белку.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается:

результаты получены на современном сертифицированном оборудовании, с помощью современных методов исследования, оптимально подобранных для решения поставленных задач; с использованием нескольких источников лактоферрина и различных линий опухолевых клеток; достоверность результатов подтверждена их воспроизводимостью при проведении нескольких (как минимум трех) повторений, а также корректной статистической обработкой;

теория и идеи базируются на данных, сформулированных на основании тщательного анализа современной отечественной и зарубежной научной литературы, посвященной получению комплексов белков молока с жирными кислотами и изучению их действия на опухолевые и нормальные клетки;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее отечественными и зарубежными научными коллективами по изучаемой тематике, а именно по исследованию образования комплексов белков с жирными кислотами и анализу их цитотоксической активности;

установлено качественное соответствие полученных в работе результатов по противоопухолевой активности комплексов белков молока с олеиновой кислотой, с данными, представленными в независимых источниках по смежной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным;

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в проведении всех основных этапов диссертационного исследования: планировании экспериментов, проведении экспериментальной части работы, статистической обработке полученных данных и их интерпретации, обосновании выводов, подготовке основных публикаций по теме диссертационной работы.

На заседании 25.05.2023 диссертационный совет принял решение: за разработку эффективного способа получения комплексов лактоферрина с жирными кислотами, всесторонний анализ физико-химических свойств и цитотоксичности комплекса лактоферрина с олеиновой кислотой, а также исследование его противоопухолевой активности у лабораторных животных присудить Елизаровой Анне Юрьевне степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 26 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.4. – Биохимия, участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

«за» - 24, «против» - 2, «недействительных бюллетеней» - 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор  Васильев В.Б.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук  Мухин В. Н.

25 мая 2023 г.