

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 20 апреля 2023 г. № 116

О присуждении Выговской Ирине Александровне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Противоопухолевый потенциал производных морских алкалоидов на модели глиобластомы»

по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология принята к защите 9 февраля 2023 г. (протокол заседания № 104) 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 Выговская Ирина Александровна, 2 марта 1989 года рождения.

В 2011 году Выговская И.А. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет» (г. Владивосток) по специальности «Химия», и получила квалификацию химик. В 2020 году окончила очную аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» по направлению подготовки 06.06.01 –

Биологические науки, специальность Клеточная биология, цитология, гистология. Выговская И.А. работает в должности научного сотрудника в лаборатории молекулярной и клеточной нейробиологии Школы биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в Департаменте Фундаментальной медицины Школы биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор медицинских наук Брюховецкий Игорь Степанович, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Медицинский центр, главный врач.

Официальные оппоненты:

Глушаков Руслан Иванович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», научно-исследовательский центр, начальник научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований);

Балдуева Ирина Александровна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова», заведующий научным отделом онкоиммунологии, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своем

положительном отзыве, подписанном Павлышем Андреем Владиславовичем, доктором медицинских наук, доцентом, заведующим кафедрой фармакологии и фармации, и утверждённым Бакулиной Н.В. доктором медицинских наук, доцентом, проректором по науке и инновационной деятельности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

указала, что диссертация «является завершённой научно-квалификационной работой, в которой, на основании проведённых автором исследований, решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для фармакологии – исследована противоопухолевая активность целого ряда соединений в отношении мультиформной глиобластомы, подтверждены соединения-лидеры, показан эффект комбинации 3-бромфаскаплизина с темозоломидом, продлевающей жизнь экспериментальных животных по сравнению с монотерапией темозоломидом».

Соискатель имеет 10 опубликованных работ по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 9 статей. Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Ляхова, И.А.** Противоопухолевое действие производных фаскаплизина на модели глиобластомы *in vitro* / **И.А. Ляхова**, И.С. Брюховецкий, И.В. Кудрявцев, Ю.С. Хотимченко, М.Е. Жидков, А.В. Кантемиров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164, № 11, С. 622-629 DOI: 10.1007/s10517-018-4055-4. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 7 страниц. Вклад соискателя: проведено планирование эксперимента, определение противоопухолевой активности ряда производных фаскаплизина методами проточной цитофлуориметрии, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 75 %).
2. Bryukhovetskiy, I. Alkaloids of fascaplysin are effective conventional

chemotherapeutic drugs, inhibiting the proliferation of C6 glioma cells and causing their death in vitro / I Bryukhovetskiy, **I Lyakhova**, P Mischenko, E Milkina, S Zaitsev, Y Khotimchenko, A Bryukhovetskiy, A Polevshchikov, I Kudryavtsev, M Khotimchenko, M Zhidkov // *Oncol Lett.* – 2017. – Vol. 2, №13. – P. 738-746; DOI: 10.3892/ol.2016.5478. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 9 страниц. Вклад соискателя: предложена концепция исследования, проведено планирование эксперимента, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 70 %).

3. Lyakhova, I. 3-Bromofascaplysin is a prospective chemical compound for developing new chemotherapy agents in glioblastoma treatment/ I. Lyakhova, M. Piatkova, Y. Khotimchenko M. Zhidkov, A. Kantemirov, R. Khotimchenko, A. Bryukhovetskiy, A. Sharma, H. Sharma, I. Bryukhovetskiy // *International Review of Neurobiology.* – 2020. – V. 151. – P. 325-343; DOI: 10.1016/bs.irn.2020.03.011. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 17 страниц. Вклад соискателя: предложена концепция исследования, проведено планирование эксперимента, разработана модель резистентной к лечению глиобластомы *in vitro*, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 80%).
4. **Lyakhova, I.** Alkaloids of fascaplysin are promising chemotherapeutic agents for the treatment of glioblastoma / **I. Lyakhova**, M. Piatkova, V. Gulaia, A. Romanishin, M. Shmelev, A. Bryukhovetskiy, A. Sharma, H. Sharma, R. Khotimchenko, I. Bryukhovetskiy // *International Review of Neurobiology.* – 2020. – V. 151. – P. 299-324; DOI: 10.1016/bs.irn.2020.03.010. Вид работы: статья в журнале. Объем публикации: 24 страницы. Вклад соискателя: проведено планирование эксперимента, анализ данных, подготовка публикации (авторский вклад составил 65 %).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. Самойлович Марины Платоновны – доктора биологических наук, главного научного сотрудника, руководителя лаборатории гибридной

технологии Института биомедицинских систем и биотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова». Отзыв положительный. В нём отмечается, что заслуживают внимания и являются новыми результаты оценки совместного применения темозоломида и замещенного фаскаплизина на выживаемость крыс с экспериментальными глиомами. В отзыве имеются несколько вопросов и замечаний, не имеющих принципиального характера: «Автореферат написан очень многословно, поэтому в нем не нашлось места для ряда нужных иллюстраций, например, результатов оценки клеточного цикла и некоторых других. К сожалению, не было изучено влияние применения 3-бромфаскаплизина в комбинации с темозоломидом на биохимические показатели у животных. В реферате несколько раз упоминается маркер CD 133 в контексте стволовых клеток опухолей. Значения содержания CD133-позитивных клеток в глиоме T98G были определены соискателем или взяты из литературы? По нашим результатам эта глиобластома содержит значительно меньше CD 133- позитивных клеток. Однако, различия могут быть обусловлены как условиями культивирования, так и свойствами антител, которые были использованы для выявления биомаркера».

2. Сесь Татьяны Павловны – доктора биологических наук, профессора, профессора кафедры иммунологии ПСПбГМУ им академика И. П. Павлова Отзыв положительный, замечаний не содержит. В отзыве отмечается теоретическое и практическое значение работы, полученные данные которой открывают возможность для дальнейшего использования исследованных алкалоидов в составе комбинированной или монотерапии как первичной глиобластомы, так и устойчивых к химиопрепаратам рецидивирующих форм.

3. Брюховецкого Андрея Степановича – доктора медицинских наук, профессора, генерального директора АО Клинический госпиталь «НейроВита». Отзыв положительный, замечаний не содержит. В отзыве

подтверждается актуальность выбранной темы, научная новизна, теоретическое и практическое значение работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывался высоким уровнем их профессиональной компетенции, наличием публикаций в соответствующей сфере исследований и широкой известностью своими достижениями в данной области науки, а именно в изучении патогенетических механизмов развития опухолей, разработкой средств лечения и профилактики онкологических заболеваний, значительным опытом практической онкологии, в том числе в лечении глиобластомы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны методические подходы для оценки влияния производных фаскаплизина и родственных алкалоидов на культуры клеток животных и человека, цитотоксического действия, воздействия на клеточный цикл, на способность к миграции;

предложена комбинация 3-бромфаскаплизина с темозоломидом, позволяющая продлить в условиях *in vivo* срок жизни экспериментальных животных с глиомой высокой степени злокачественности;

доказана перспективность использования и дальнейшего изучения производных фаскаплизина для борьбы с первичной глиобластомой и ее рецидивирующей формой;

введены новые концептуальные представления о влиянии заместителей в структуре молекулы пиридодиндола на противоопухолевую активность в отношении устойчивой к лечению рецидивирующей формы глиобластомы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о зависимости противоопухолевого эффекта фаскаплизина и его производных от времени экспозиции *in vitro* на моделях глиомы крыс С6 и глиобластомы человека U87 и T98G;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных исследовательских технологий, в том числе

применены методы анализа цитотоксической активности исследуемых соединений с помощью прижизненной окраски опухолевых и неопухолевых клеток флуоресцентными красителями и оценка апоптоза с помощью проточной цитофлуориметрии, метод стереотаксического моделирования глиомы высокой степени злокачественности у крыс, проведения экспериментальной терапии животным с привитой опухолью производными фаскаплизина и их комбинации с темозоломидом, оценки поведения и функционального состояния животных, их выживаемости, а также использован широкий арсенал средств анализа данных;

изложены доказательства того, что присутствие алкалоидов фаскаплизинового ряда и его производных в культуре опухолевых клеток глиомы крыс линии С6, а также модели глиобластомы человека линий U87 и T98G не только вызывает гибель этих клеток, но и блокируют их жизненный цикл;

раскрыты дифференциальные эффекты 3-бромфаскаплизина и 9-бромфаскаплизина на поведение крыс, токсическое влияние этих веществ на клетки печени и почек экспериментальных животных;

изучена зависимость выживания клеток глиобластомы человека T98G при регулярном воздействии ионизирующим излучением дозами по 6 Гр;

проведена модернизация метода стереотаксической имплантации глиомы высокой степени злокачественности экспериментальным животным.

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

определены перспективы практического использования производных фаскаплизина (на примере 3-бромфаскаплизина и 9-бромфаскаплизина) для терапии глиом высокой степени злокачественности первичной и рецидивирующей форм;

создана модель устойчивой к темозоломиду, рецидивирующей глиобластомы *in vitro*, которая открывает возможность изучения механизмов

возникновения резистентности и приспособляемости глиобластомы при использовании стандартных протоколов лечения;

представлены доказательства необходимости определения активности потенциальных противоопухолевых соединений в отношении устойчивых к традиционной химиотерапии клеточных культурах глиобластомы человека и моделей *in vivo*.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании, с использованием общепризнанных современных методов исследования, на достаточном объеме фактического материала, с применением широкого арсенала методов математической статистики;

теория об увеличении противоопухолевой активности производных фаскаплизина, содержащих атом брома по сравнению с незамещенной молекулой исходного алкалоида и перспективности использования 3-бромфаскаплизина в качестве противоопухолевого соединения в отношении глиобластомы построена на проверяемых данных и фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными;

идея комбинации 3-бромфаскаплизина и темозоломида для более эффективной терапии глиомы первичной и рецидивирующей формы высокой степени злокачественности базируется на обобщении собственных экспериментальных данных и находится в соответствии с данными, полученными другими ведущими специалистами в данной области;

проведён сравнительный анализ авторских данных с результатами, представленными в независимых источниках в области фармакологии;

установлено качественное совпадение авторских результатов с данными независимых исследований, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным;

использованы современные методики сбора и анализа информации с обоснованием подбора объектов исследования.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: выработка концепции и планирование работы, сбор и анализ литературы по соответствующей тематике, разработка оптимальных методических подходов, проведение исследований, статистическая обработка полученных результатов, их анализ, подготовка публикаций, апробация результатов на конференциях.

На заседании 20 апреля 2023 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретического обоснования противоопухолевого эффекта производных морских алкалоидов при моделировании глиобластомы, присудить Выговской Ирине Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 29 человек, из них 5 докторов наук по специальности 3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология, участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

«за» - 29, «против» - 0, «недействительных бюллетеней» - 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



V. B. Vasильev
Васильев В.Б.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Мухин Мухин В. Н.

20 апреля 2023 г.