

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.058.07 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 16.05.2024 № 3

О присуждении Первушину Николаю Викторовичу, гражданину Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему: «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления», по специальности 1.5.4. Биохимия, принята к защите 29.02.2024 г., протокол № 1 диссертационным советом 21.2.058.07 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (приказ № 1135/нк от 23.09.2015г.), почтовый адрес: 117513, Москва, ул. Островитянова, д.1, стр.6.

Соискатель Первушин Николай Викторович 1997 года рождения, окончил с отличием факультет фундаментальной медицины по специальности «Фармация» (2020 г.) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». С 2020 по настоящее время обучается в очной аспирантуре по направлению 06.06.01. (1.5.) «Биологические науки» направленности 03.01.04. (1.5.4.) «Биохимия» на кафедре биохимии и регенеративной биомедицины факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». В настоящее время Первушин Н.В. является аспирантом 4 года обучения кафедры биохимии и регенеративной биомедицины и научным сотрудником лаборатории

исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Диссертация выполнена в лаборатории исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Научный руководитель:

Копейна Гелина Сергеевна – доктор биологических наук (приказ № 139/нк от 16.02.2024г.), ведущий научный сотрудник лаборатории исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Официальные оппоненты:

Филимонова Марина Владимировна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией радиационной фармакологии Медицинского радиологического научного центра имени А. Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Якубовская Марианна Геннадиевна – доктор медицинских наук, заведующий отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальный оппонент Филимонова Марина Владимировна, дала положительный отзыв на диссертацию, но акцентировала внимание на ряде недостатков, требующих доработки или исправления, и вопроса, на который диссертант дал развернутый ответ.

Оппонентом отмечено, что указанные в отзыве недостатки не носят принципиального характера, не снижают общей положительной оценки работы.

Официальный оппонент Якубовская Марианна Геннадиевна, дала положительный отзыв на диссертацию, но в нем есть замечания, которые не снижают научно-практической значимости проведенного исследования и не влияют на корректность сделанных автором выводов исследования.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии гена Российской академии наук» (ИБГ РАН) в своем положительном заключении, утвержденным Георгиевым Павлом Георгиевичем – доктором биологических наук, профессором, академиком РАН, директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена Российской академии наук» (ИБГ РАН) и подписанным Татарским Виктором Вячеславовичем – кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником, заведующим лабораторией молекулярной онкобиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена Российской академии наук» (ИБГ РАН) (протокол №1 от 18.03.2024 г.), отметила, что работа является актуальной и имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Полученные результаты о маркерах, определяющих чувствительность опухолевых клеток к ингибированию Mcl-1, а также полученные *in vitro*, *in silico* и *in vivo* данные о механизмах приобретенной устойчивости к действию антагонистов Mcl-1 и MDM2, имеют большое значение для развития современных стратегий лечения онкологических заболеваний. Выявленное автором наличие биологической активности у новых ингибиторов MDM2, являющихся модификациями Нутлина-3а и обладающих повышенной растворимостью по сравнению с оригинальными соединениями из семейства нутлинов, значимо для усовершенствования подходов синтеза водорастворимых лекарственных препаратов.

Отзыв положительный, отдельные опечатки и небрежности встречаются очень редко, и не снижают высокой оценки представленной работы и ее

научной и научно-практической значимости. По результатам диссертации есть несколько вопросов дискуссионного характера, на которые диссертант дал развернутые ответы.

В заключении указывается, что диссертационная работа Н.В. Первушина является законченной научно-квалификационной работой, содержит новое решение актуальной задачи биохимии по исследованию причин возникновения резистентности опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2, по своей актуальности, научной новизне, теоретической и научно-практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов полностью отвечает требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием у них публикаций в рецензируемых отечественных и международных журналах по тематике, представленной к защите диссертации.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 8 научных статей, 2 из которых опубликованы в рецензируемых профильных научных журналах, включенных в перечень ВАК, 6 статей – в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, и 8 тезисов докладов на конгрессах и конференциях. Общий объем публикаций составил 4.97 печатных листов и содержит 93,69 % авторского вклада.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Pervushin N.V.** Mcl-1 as a “barrier” in cancer treatment: Can we target it now? / Pervushin, N.V., Senichkin, V.V., Zhivotovsky, B., Kopeina, G.S. // Int. Rev. Cell Mol. Biol. – 2020. – Vol. 351. – P. 23–55. WoS, Scopus, ИФ=6.8
2. Сеничкин В.В. Таргетирование белков семейства Bcl-2: что, где, когда? / Сеничкин, В.В., **Первушин, Н.В.**, Зуев, А.П., Животовский, Б., Копейна, Г.С. // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 10. – С. 1421–1441. РИНЦ, ВАК, ИФ=2.8
3. Senichkin V.V. Bcl-2 and Bcl-xL Participate in Regulating Sensitivity of Solid Tumor Derived Cell Lines to Mcl-1 Inhibitors / Senichkin, V.V., **Pervushin, N.V.**,

Zamaraev, A.V., Sazonova, E.V., Zuev, A.P., Streletskaia, A.Y., Prikazchikova, T.A., Zatsepin, T.S., Kovaleva, O.V., Tchekina, E.M., Zhivotovsky, B., Kopeina, G.S. // *Cancers*. – 2021. – Vol. 14, № 1. – P. 181. WoS, Scopus, ИФ=5.2

4. Bazanov D.R. Synthetic Design and Biological Evaluation of New p53-MDM2 Interaction Inhibitors Based on Imidazoline Core / Bazanov, D.R., **Pervushin, N.V.**, Savin, E.V., Tsymliaikov, M. D., Maksutova, A.I., Savitskaya, V.Yu., Sosonyuk, S.E., Gracheva, Y.A., Seliverstov, M.Yu., Lozinskaya, N.A., Kopeina, G.S. // *Pharmaceuticals*. – 2022. – Vol. 15, № 4. – P. 444. WoS, Scopus, ИФ=4.6

На автореферат поступили отзывы от:

Лесовой Екатерины Андреевны, доктора биологических наук, доцента, старшего научного сотрудника группы природных канцерогенов отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В отзыве отмечено, что диссертация Первушина Николая Викторовича является важной и актуальной. Автором получены данные о реализации механизма развития лекарственной устойчивости опухолевых клеток к антагонисту Mcl-1 S63845. Получены данные, свидетельствующие о прогностическом значении экспрессии белков Bak, Bcl-xL и Mcl-1. Проведено исследование механизма развития устойчивости к антагонисту MDM2 (RG7388), реализуемого через мутацию His193Arg в опухолевом супрессоре p53. Кроме того, исследованы подходы по восстановлению чувствительности опухолевых клеток к действию антагонистов Mcl-1 и MDM2. В представленной работе Первушин Н.В. использует широкий спектр молекулярно-биологических методов. Необходимо отметить продуманность в выборе адекватных подходов и методов исследования для каждой группы стоящих перед автором задач. Выводы диссертации полностью соответствуют цели исследования и поставленным задачам.

Отзыв положительный. Принципиальных замечаний к автореферату нет.

Величко Артема Константиновича, кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией Стабильности

генома Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена Российской академии наук».

В отзыве отмечается четкая постановка экспериментальных задач. Все исследования выполнены на высоком уровне с применением разнообразных методов. Получены данные о роли белков Bcl-2 и Bcl-xL в формировании устойчивости к действию антагониста Mcl-1 S63845 и преодолении данной резистентности за счет использования селективных антагонистов этих белков в комбинации с S63845. Автором показан синергетический эффект при использовании антагонистов Mcl-1 (S63845) и MDM2 (RG7388) в клетках нейробластомы. Первушин Н.В. получает устойчивые к действию RG7388 клетки нейробластомы, объясняет механизм этого типа устойчивости за счет мутации His193Arg в белке p53 и показывает, что ни S63845, ни ДНК-повреждающие агенты (Цисплатин и Доксорубин) не были способны ее эффективно преодолеть. Представленные в работе Первушина Н.В. результаты имеют не только большое фундаментальное, но и прикладное значения, так как могут быть использованы как в разработке новых, так и в усовершенствовании существующих стратегий лечения онкологических заболеваний.

Отзыв положительный, но содержат ряд замечаний и вопросов, которые не являются критическими и не влияют на общую ценность работы. На вопросы, содержащиеся в отзыве, диссертант дал развернутые ответы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- выявлено, что наличие проапоптотического белка Bак является прогностическим фактором, определяющим чувствительность раковых клеток к действию антагонистов Mcl-1;

- обнаружено, что повышение уровней экспрессии антиапоптотических белков Bcl-2 или Bcl-xL лежит в основе развития приобретенной устойчивости опухолевых клеток к действию антагониста Mcl-1 S63845;

- установлено, что комбинирование антагонистов Bcl-2 или Bcl-xL с антагонистом Mcl-1 S63845 ведет к преодолению устойчивости опухолевых клеток к действию последнего;

- показано, что пониженные уровни белков Bcl-xL и Mcl-1 и повышенный уровень белка Bax по сравнению с другим профилем экспрессии этих белков определяют благоприятный прогноз выживаемости пациентов с аденокарциномой легкого;

- обнаружено, что сочетание S63845 и антагониста MDM2 RG7388 (Идасанутлина) ведет к синергетическому усилению гибели клеток нейробластомы;

- установлено, что причина развития приобретенной устойчивости к RG7388 связана с нарушением структуры белка p53 вследствие появления мутаций в гене этого белка. Замена гистидина на аргинин в положении 193 в структуре белка p53 ведет к дестабилизации его взаимодействия с ДНК и, как следствие, снижению транскрипционной активности p53;

- показано, что S63845 и ДНК-повреждающие агенты Цисплатин и Доксорубин приводят к частичному преодолению устойчивости клеток нейробластомы к действию RG7388 в *in vitro* и *in vivo* экспериментах;

- выявлено, что новые антагонисты MDM2, представляющие собой аналоги Нутлина-3а, обладают способностью стабилизировать уровень p53 и улучшенными физико-химическими свойствами по сравнению с Нутлином-3а.

Теоретическая и практическая значимость исследования обоснована тем, что:

полученные данные о прогностических маркерах чувствительности раковых клеток к ингибированию Mcl-1, а также *in vitro*, *in silico* и *in vivo* результаты, касающиеся механизмов приобретенной устойчивости к действию антагонистов Mcl-1 и MDM2, могут внести существенный вклад в развитие современных подходов к лечению онкологических заболеваний. В частности, эти сведения позволяют оценить потенциальные преимущества и риски применения селективных ингибиторов Mcl-1 и MDM2. Кроме того, полученная информация может способствовать одобрению и рациональному использованию данных агентов в клинической практике в будущем. Прогностическое значение профиля экспрессии белков семейства Bcl-2 у

пациентов с аденокарциномой легкого имеет большое значение в контексте развития подходов персонализированной медицины. Наличие биологической активности у новых производных Нутлина-3а, ингибиторов MDM2, обладающих повышенной растворимостью по сравнению с оригинальными соединениями из семейства нутлинов, значимо для усовершенствования стратегий получения водорастворимых лекарственных препаратов.

Результаты диссертационной работы были внедрены в педагогические программы факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, войдя в курсы лекций «Программируемая гибель клеток в медицине» и «Токсикология», а также в программу Школы молодых ученых ИМБ им. В. А. Энгельгардта РАН «Программируемая клеточная гибель: значение и механизмы» (Москва, 17-18 октября 2023 года).

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

количественную и качественную сопоставимость результатов, полученных автором в ходе исследования, с результатами последних публикаций других авторов, выполненных по схожей тематике; результаты, приведенные соискателем, получены с использованием современных подходов биохимии; выводы аргументированы, научно обоснованы и являются прямым следствием результатов проведенных автором исследований. Оригинальность работы, согласно системе «Антиплагиат», составляет 93,69 %.

Личный вклад соискателя заключается в том, что все этапы исследования были выполнены им лично или при его непосредственном участии. Н.В. Первушин определил цель и задачи исследования, провел анализ литературных данных, осуществил планирование экспериментов, подобрал методы, подходящие для выполнения поставленных задач, произвел статистическую обработку и интерпретацию полученных результатов, сформулировал выводы, написал текст диссертации.

Результаты диссертационного исследования отражены в 16 печатных работах, в том числе в 8 статьях в рецензируемых научных журналах и 8 тезисах докладов научных конференций.

Диссертационный совет установил, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, полностью отвечает требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 101 от 26.01.2023 г.), в ней отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты, в диссертации отсутствует заимствованный материал без ссылки на автора и(или) источник заимствования.

На заседании 16 мая 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Первушину Николаю Викторовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки), участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 20, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Кузнецов Д.А.

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Кягова А.А.

17.05.2024 г.

