

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01 (Д 001.017.01),
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «23» декабря 2021г., № 28

О присуждении Малек Анастасии Валерьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Возможности применения нановезикулярных технологий в онкологии» по специальности 14.01.12 – Онкология («медицинские науки») принята к защите 24 июня 2021 года, протокол №19, диссертационным советом 21.1.032.01 (Д 001.017.01), созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, приказ о создании диссертационного совета №105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Малек Анастасия Валерьевна 23 февраля 1972 года рождения.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Анализ профиля экспрессии генома клеток рака яичников» защитила в 2005 году в диссертационном совете, созданном на базе научно-исследовательского института онкологии имени профессора Н.Н. Петрова.

Работает заведующей научной лаборатории субклеточных технологий с группой онкоэндокринологии в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в научной лаборатории субклеточных технологий с группой онкоэндокринологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты -

доктор медицинских наук, профессор, Берштейн Лев Михайлович, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория субклеточных технологий с группой онкоэндокринологии, главный научный сотрудник;

доктор биологических наук, профессор, Красильников Михаил Александрович, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ канцерогенеза, директор.

Официальные оппоненты:

Боженко Владимир Константинович, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, заведующий;

Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, лаборатория молекулярных механизмов канцерогенеза, руководитель;

Юнусова Наталья Валерьевна, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук», научно-исследовательский институт онкологии, лаборатория биохимии опухолей, ведущий научный сотрудник;

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск, в своем положительном отзыве, подписанном Лактионовым Павлом Петровичем, кандидат биологических наук, лаборатория молекулярной медицины, заведующий, указала, что диссертация является законченной, самостоятельно выполненной, научно-квалификационной работой, в которой предлагаются научно-обоснованные варианты использования современных нановезикулярных технологий в практической медицине, в частности в онкологии. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановлений Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335, от 02 августа 2016 г. №748, от 29 мая 2017 г. №650, от 28 августа 2017 г. №1024 и от 01 октября 2018 г. №1168, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, и ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Соискатель имеет 60 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 12 работ.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Малек Анастасией Валерьевной работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 75%, общий объем научных изданий составляет 4,75 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер. В опубликованных работах

отражено решение задач диссертационного исследования. В частности, представлены результаты разработки новых методов выделения нановезикул из биологических жидкостей, дана оценка диагностического потенциала везикулярных микроРНК, отражены результаты исследования эффекта взаимодействия нановезикул плазмы и клеток рака молочной железы и разработки новых методов доставки терапевтических РНК в опухолевые клетки

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Malek, A. In vivo pharmacokinetics, tissue distribution and underlying mechanisms of various PEI(PEG)/siRNA complexes. / Malek A., Merkel O., Fink L., Czubayko F., Kissel T. and Aigner A. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – V. 236(1). – P. 97-108.
2. Самсонов, Р.Б. Выделение и анализ экзосомальной микро-рнк из мочи: новый метод диагностики рака предстательной железы. / Самсонов Р.Б., Штам Т.А., Бурдаков В.С., Глотов А.С., Цырлина Е.В., Носов А.К., Евтушенко В.И., Филатов М.В. и Малек А.В. // *Экспериментальная и клиническая урология.* – 2015. – Т. 4. – С. 28-32.
3. Samsonov, R. Lectin-induced agglutination method of urinary exosomes isolation followed by mi-RNA analysis: Application for prostate cancer diagnostic. / Samsonov R., Shtam T., Burdakov V., Glotov A., Tsyrlina E., Berstein L., Nosov A., Evtushenko V., Filatov M. and Malek A. // *Prostate.* – 2016. – V. 76(1). – P. 68-79.
4. Samsonov, R. Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer. / Samsonov R, Burdakov V, Shtam T, Radzhabova Z, Vasilyev D, Tsyrlina E, Titov S, Ivanov M, Berstein L, Filatov M, Kolesnikov N, Gil-Henn H, Malek A. // *Tumor Biol.* – 2016. – V. 37(9). – P. 12011-12021.
5. Самсонов, Р.Б. Стимуляция метастатической активности клеток рака молочной железы экзосомами плазмы. / Самсонов Р.Б., Коваленко И.М., Васильев Д.А., Цырлина Е.В., Дашян Г. А., Шохат-Карвальо Х., Карасик Д., Берштейн Л.М., Лютынский В.В., Малек А.В. // *Российский Биотерапевтический Журнал.* – 2016. – Т. 15(2). – С. 6-16.

6. Самсонов, Р.Б. Метод дифференциальной диагностики узловых заболеваний щитовидной железы: анализ комбинации микроРНК (миРНК-21, -181А и -146А). / Самсонов Р.Б., Бурдаков В.С., Штам Т.А., Раджабова З.А., Чебуркин Ю.В., Васильев Д.А., Цырлина Е.В., Титов С.Е., Иванов М.К., Филатов М.В., Берштейн Л.М., Колесников Н.Н., Малек А.В. // Опухоли головы и шеи. – 2017. – Т. 2 (7). – С. 16-24.
7. Самсонов, Р.Б. Диагностическое значение экзосомальных микроРНК при колоректальном раке. / Тарасов М.А., Бурдаков В.С., Штам Т.А., Гуляев А.М. Ткаченко О.Б., Рыбаков Е.Г., Филатов М.В., Айгнер А., Малек А.В. // Колопроктология. – 2018. – Т. 2(64). – С. 25-31.
8. Коваленко, И.М. Экзосомальные микро-рнк – потенциальный предиктивный маркер эффекта неоадьювантной терапии рака молочной железы Вопросы онкологии. / Коваленко И.М., Самсонов Р.Б., Штам Т.А., Цырлина Е.В., Камышинский Р.А., Дашян Г.А., Берштейн Л.М., Семиглазов В.Ф., Малек А.В. // Вопросы онкологии. – 2018. – Т. 64(6). – С. 758-767.
9. Коробкина, Е.А. Сравнительный анализ методов детекции микро-рнк с помощью обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). / Коробкина Е.А., Князева М.С., Киль Ю.В., Титов С.Е., Малек А.В. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т. 63(11). – С. 722-728.
10. Shtam, T. Functional properties of circulating exosomes mediated by surface-attached plasma proteins. / Shtam T., Naryzhny S., Kopylov A., Petrenko E., Samsonov R., Kamyshinsky R., Zabrodskaya Y., Nikitin D., Sorokin M., Buzdin A., Malek A. // J Hematol. – 2018. – V. 7(4). – P. 149-153.
11. Shtam, T. Plasma exosomes stimulate breast cancer metastasis through surface interactions and activation of FAK signaling. / Shtam T., Naryzhny S., Samsonov R., Karasik D., Mizgirev I., Kopylov A., Petrenko E., Zabrodskaya Y., Kamyshinsky R., Nikitin D., Buzdin A., Malek A. // Breast Cancer Res Treat. – 2019. – V. 174(1). – P. 129-141.

12. Zhupanyn, P. Extracellular vesicle (ECV)-modified polyethylenimine (PEI) complexes for efficient siRNA delivery in vitro and in vivo. / Zhupanyn P, Ewe A, Büch T, Malek A, Rademacher P, Muller C, Reinert A, Jaumes Y, Aigner A // Journal of Controlled Release. – 2020. – V. 319. – P. 63-76.

На диссертацию и автореферат поступил отзыв из:

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв подписан Семиглазовым Владиславом Владимировичем, доктором медицинских наук, заведующим кафедрой онкологии. В отзыве указано, что диссертация является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение ряда задач, имеющих потенциальное или практическое значение для онкологии. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Малек Анастасии Валерьевны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология;

федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв подписан Златник Еленой Юрьевной, доктором медицинских наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории иммунофенотипирования опухолей. В отзыве указано, что диссертационное исследование самостоятельно выполненной научно-

квалификационной работой. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Малек Анастасии Валерьевны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции от 11.09.2021г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология;

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв подписан Чойнзоновым Евгением Лхаматцыреновичем, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, заведующим кафедрой онкологии. В отзыве отмечено, что диссертационное исследование по своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Малек Анастасии Валерьевны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология

Отзывы целиком положительные, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Боженко Владимир Константинович, доктор медицинских наук, Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, Юнусова Наталья Валерьевна, доктор медицинских наук, выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, оппоненты являются

экспертами по специальности диссертации, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.

Ведущая организация выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области фундаментальной медицины, способный определить научную и практическую ценность диссертации, и имеющий ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработаны новые, адаптированные к клиническому использованию, технологии выделения и анализа внеклеточных нано-везикул из биологических жидкостей

Предложены области применения и пути внедрения новых нановезикулярных технологий в фундаментальную и клиническую онкологию

Доказана возможность создания методов первичной и/или дифференциальной диагностики, прогнозирования эффекта лечения онкологических заболеваний путем анализа микроРНК в составе циркулирующих нановезикул плазмы; роль циркулирующих внеклеточных нано-везикул в процессе метастатической диссеминации; возможность оптимизации функциональных характеристик трансфекционных комплексов для доставки терапевтических микроРНК путем их «упаковки» в мембранные нановезикулы

Введены в практику работы научной лаборатории новые технологии выделения, анализа и модификации внеклеточных нано-везикул.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана значимая патогенетическая роль циркулирующих нановезикул плазмы в процессе метастатической диссеминации.

Применительно к проблематике диссертации результативно **использованы** современные методы количественного и качественного анализа наноразмерных

везикул (методы корреляционной спектроскопии, проточной цитометрии), методы их визуализации (атомная силовая микроскопия, крио-электронная микроскопия) и технологии оценки функциональных характеристик внеклеточных нано-везикул в условиях *in vitro* и *in vivo* экспериментов.

Изложены доказательства стимулирующего эффекта нано-везикул плазмы, который они оказывают на опухолевые клетки, и факторы, опосредующие взаимодействие нановезикул и клеток.

Раскрыты молекулярные механизмы взаимодействия нановезикул плазмы с мембраной опухолевых клеток, участие в этом процессе поверхностных рецепторов, связанных с киназой фокальной адгезии.

Изучены в условиях *in vitro* и *in vivo* экспериментов эффекты взаимодействия нановезикул плазмы и опухолевых клеток, включая активацию двигательной активности клеток, повышение метастатического потенциала.

Проведена модернизация технологий выделения, количественного и качественного анализа и методов исследования функциональных характеристик внеклеточных нановезикул в условиях *in vitro* и *in vivo* экспериментов.

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

Разработаны и внедрены в практику работы исследовательской лаборатории новые нановезикулярные технологии, которые могут быть использованы для дальнейших исследований в целях разработки методов диагностики и терапии онкологических заболеваний.

Определена возможность применения нано-везикулярных технологий в онкологии, включая методы диагностики онкологических заболеваний путем анализа везикулярных микроРНК и методы терапии онкологических заболеваний с помощью терапевтических микроРНК в составе трансфекционных комплексов на основе нановезикул.

Созданы методы выделения и последующего анализа внеклеточных нановезикул, технология формирования микроРНК-содержащих трансфекционных комплексов на основе катионных полимеров и нановезикул.

Представлены рекомендации относительно путей повышения чувствительности и специфичности диагностических технологий, основанных на анализе циркулирующих нановезикул плазмы.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Работа выполнена на высоком методологическом уровне, с применением современных технологий микроскопии и корреляционной спектроскопии, экспериментальные этапы работы проведены с должными контролями, результаты измерений воспроизведены в достаточном количестве технических повторов, в ходе исследования биологического материала использовались достаточные по количеству образцов группы, использованные методики соответствовали поставленным задачам.

Теория построена на результатах многих исследований проведенных за последние годы и опубликованных в отечественной и зарубежной литературе, указывающих на важную физиологическую роль внеклеточных нановезикул и их участие в регуляции процесса локального роста и диссеминации злокачественных опухолей

Идея базируется на детальном анализе результатов наиболее значимых исследований в области нормальной физиологии и патофизиологии нановезикул, анализе данных описательных и экспериментальных исследованиях, указывающих на высокий диагностический и терапевтический потенциал применения нановезикулярных технологий в онкологии.

Установлено, что разработанные в рамках исследования новые методы выделения и анализа нановезикул достаточно технологичны для применения в клинической практике; результаты оценки диагностического потенциала везикулярных микроРНК сопоставимы с данными литературы и представляются достоверными, для результатов экспериментальных этапов работы проведен

анализ статистической достоверности, они подтверждены иллюстративным материалом и не вызывают сомнений.

Использованы современные методики обработки экспериментальных результатов: в рамках статистического анализа данных описательных исследований проведено вычисление средних значений исследуемых признаков для сравниваемых групп, для оценки статистической значимости разницы, наблюдаемой между группами, проводился расчет критерия Манн-Уитни и/или Краскела-Уоллиса; оценка показателей диагностической значимости разрабатываемых методов проводилась с помощью ROC-анализа, расчета значения площади под кривой (AUC, area under curve), показателей чувствительности и специфичности; при проведении многократных технических повторов аналогичных измерений в рамках экспериментальных этапов исследования проводился расчет среднего значения и среднеквадратичного отклонения; статистический анализ данных проводился с использованием программ Microsoft Excel, GraphPad Prizm 8.0, Sigma Plot 11.0.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и организации всех этапов исследования, проведении анализа отечественной и зарубежной литературы по данной научной тематике, освоении стандартных и разработке новых технологий выделения и анализа нановезикул, сборе клинического материала от пациентов, проходивших обследование и/или лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, организации работ по анализу образцов биологического материала; непосредственном проведении всех *in vitro* и *in vivo* экспериментов. Автором самостоятельно интерпретированы полученные данные, получены патенты на разработанные технологии и подготовлены публикации по результатам основных этапов исследования.

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания

Соискатель Малек Анастасия Валерьевна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы, согласилась с замечаниями и привела собственную аргументацию.

На заседании 23 декабря 2021 года диссертационный совет принял решение: за разработку ряда новых, адаптированных к клиническому применению, технологий выделения нановезикул из биологических жидкостей; анализ диагностического потенциала везикулярных форм микроРНК; исследование эффекта и молекулярных механизмов взаимодействия нановезикул плазмы и опухолевых клеток и за разработку инновационной технологии доставки терапевтических молекул РНК в опухолевые клетки, квалифицируемых как научные достижения, имеющих важное значение для фундаментальной и клинической онкологии, присудить Малек Анастасии Валерьевне ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 10 докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия «медицинские науки», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали за – 16, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя

диссертационного совета,

д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН

Заридзе Давид Георгиевич

Ученый секретарь

диссертационного совета,

д.м.н., профессор

23 декабря 2021 г.



Кадагидзе Заира Григорьевна