

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.017.01 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 КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

дата защиты 24 июня 2021 г., протокол № _19_

О присуждении Шолиной Наталье Валериевне, гражданину Российской Федерации, степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Фотодинамическая терапия солидных опухолей с применением фотосенсибилизатора эндогенной природы и наноразмерных апконвертирующих фосфоров» в виде рукописи по специальности 14.01.12 – Онкология («медицинские науки») принята к защите 15 апреля 2021 года, протокол №12, диссертационным советом Д 001.017.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва, 115478, Каширское шоссе, д.24, Приказ о создании диссертационного совета №105/нк от 11.04.2012 г).

Соискатель Шолина Наталья Валериевна, 1992 года рождения, в 2015 году с отличием окончила государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Медико-профилактическое дело».

С 2020 года работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории лазерной биомедицины федерального государственного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории биомаркеров и механизмов опухолевого ангиогенеза Научно-исследовательского института (НИИ) экспериментальной диагностики и терапии опухолей федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России).

Научные руководители:

Степанова Евгения Владиславовна – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Российская академия наук», советник вице-президента;

Хайдуков Евгений Валерьевич – кандидат физико-математических наук, федеральное государственное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, лаборатория лазерной биомедицины, заведующий.

Официальные оппоненты:

Гельфонд Марк Львович, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научное отделение торакальной онкологии, старший научный сотрудник;

Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, профессор, автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», центр фотоники и квантовых материалов, профессор

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский

исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своем положительном заключении, составленном Филоненко Еленой Вячеславовной, заведующей центром лазерной и фотодинамической терапии и диагностики опухолей, и утвержденном Алексеевым Борисом Яковлевичем, доктором медицинских наук, профессором, заместителем генерального директора по науке, указала, что диссертация является законченный научно-квалификационным исследованием, выполненном на современном методическом уровне. Работа содержит решение актуальной задачи фундаментальной и клинической онкологии – поиск новых эффективных и безопасных препаратов для фотодинамической терапии в экспериментальной и клинической онкологии. По своей научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация 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 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и ее автор заслуживает искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 - Онкология.

Соискатель имеет 17 научных публикаций, из них по теме диссертации — 15, из них 8 статей опубликовано в журналах, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки России.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Шолиной Н.В. работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 80%, общий объем научных изданий составляет 2,5 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер. В опубликованных работах отражены основные выводы о перспективности использования рибофлавина (витамина В2) в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии солидных опухолей

как самостоятельно, так и в комбинации с наноразмерными апконвертирующими фосфорами.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Generalova, A.N. PEG-modified upconversion nanoparticles for in vivo optical imaging of tumors / A.N. Generalova, V.V. Rocheva, A.V. Nechaev, D.A. Khochenkov, N.V. Sholina, V.A. Semchishen, V.P. Zubov, A.V. Koroleva, B.N. Chichkov, E.V. Khaydukov // RSC Advances. – 2016. – № 6 (36.) – С. 30089-30097.

2. Mironova, K.E. Ultraviolet phototoxicity of upconversion nanoparticles illuminated with near-infrared light / K.E. Mironova, D.A. Khochenkov, A.N. Generalova, V.V. Rocheva, N.V. Sholina, A.V. Nechaev, V.A. Semchishen, S.M. Deyev, A.V. Zvyagin, E.V. Khaydukov // Nanoscale. – 2017. - № 9 (39). - С. 14921-14928.

3. Akasov, R.A. Photodynamic therapy of melanoma by blue-light photoactivation of flavinmononucleotide / R.A. Akasov, N.V. Sholina, D.A. Khochenkov, A.V. Alova, P.V. Gorelkin, A.S. Erofeev, A.N. Generalova, E.V. Khaydukov // Scientific Reports. – 2019. - № 9 (1). – С. 9679-9686.

4. Шолина, Н.В. Фотодинамическая терапия солидных опухолей *in vitro* и *in vivo* с применением комбинации рибофлавина и наноразмерных апконвертирующих фосфоров / Н.В. Шолина, Р.А. Акасов, Д.А. Хоченков, А.Н. Генералова, В. А. Семчишен, Е. В. Хайдуков // Альманах клинической медицины. – 2019. – № 47 (7). – С. 647–653.

На диссертацию и автореферат поступил отзыв из:

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тольяттинский государственный университет», г. Тольятти. Отзыв подписан профессором Центра медицинской химии, доктором химических наук Зоей Петровной Белоусовой, доцентом Центра медицинской химии, кандидатом химических наук Еленой Владимировной Варакиной, директором Центра медицинской химии, доцентом Александром Сиясатовичем Буневым. В отзыве указано, что диссертация является законченным и

самостоятельным научно-квалификационным исследованием, содержит решение актуальной задачи фундаментальной онкологии. По своей научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация 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 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология;

федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова», г. Москва. Отзыв подписан ученым секретарем, заведующим отделом биоматериалов и бионанотехнологий, лабораторией молекулярной биофизики, профессором, доктором физико-математических наук Владимиром Александровичем Олейниковым. В отзыве указано, что диссертационная работа является законченным и самостоятельным научно-квалификационным исследованием, содержит решение актуальной задачи онкологии. По своей научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 (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 и от 01 октября 2018 г. № 168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Отзывы целиком положительные, замечаний нет.

Обоснование выбора оппонентов и ведущей организации. Оппоненты выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие. Ведущая организация выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области клинической и экспериментальной онкологии, 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:

разработана новая научная идея использования фотосенсибилизатора эндогенной природы – флавиномононуклеотида (ФМН) для фотодинамической терапии (ФДТ) опухолей как самостоятельно, так и в комбинации с наноразмерными апконвертирующими фосфорами (НАФ);

предложен новый подход, позволяющий активировать фотосенсибилизатор в глубине биоткани, благодаря его комбинированному применению с НАФ;

доказано, что ФМН при его возбуждении светом синего диапазона спектра выступает в качестве эффективного фотосенсибилизатора, способного селективно накапливаться в ряде опухолевых клеток и при однократном воздействии тормозит рост опухоли, а его комбинированное использование с НАФ позволяет провести ФДТ светом ближнего инфракрасного диапазона спектра, глубоко проникающим в биоткани;

введены в рутинную практику *in vitro* и *in vivo* методики исследования фотосенсибилизаторов при их фотоактивации НАФ.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в поиск новых безопасных фотосенсибилизирующих соединений и направленные на повышение

эффективности ФДТ;

применительно к проблематике диссертации эффективно **использован** комплекс экспериментальных методик: оценка антипролиферативного эффекта ФМН и НАФ осуществлялась с помощью МТТ-теста, уровень клеточного накопления ФМН и механизмы клеточной гибели определялись методом проточной цитофлуориметрии, локализация фотосенсибилизатора - методом конфокальной микроскопии, измерение уровня активных форм кислорода исследовано с помощью платинированного нанозэлектрода и верифицировано с использованием флуоресцентных красителей. ФДТ с использованием как с ФМН, так и его сочетанием с НАФ проведена на ксенографтных моделях опухолей;

изложены убедительные доказательства того, что ФМН не проявляет темновой цитотоксичности. Доказано, что за проявление фотоцитотоксических свойств ФМН отвечают активные формы кислорода и продукты его фотораспада. Показано, что применение ФМН в качестве фотосенсибилизатора для ФДТ позволяет значительно затормозить рост опухоли после однократного облучения, а его комбинация с НАФ увеличивает глубину фотодинамического воздействия.

раскрыты основные механизмы взаимодействия фотосенсибилизатора, цитотоксических активных форм кислорода и продуктов фоторазложения при возбуждении его активирующим светом с нормальными и опухолевыми клетками и возможность опосредованной активации фотосенсибилизатора на глубине биоткани с использованием наночастиц, обладающих антистоксовой фотолюминесценцией;

изучены свойства ФМН, его взаимодействия с опухолевыми и нормальными клеточными линиями, установлены концентрации фотосенсибилизатора и дозы облучения для проведения ФДТ;

проведена модернизация существующего метода лечения онкологических заболеваний - ФДТ, где в качестве фотосенсибилизирующего препарата

применяется дериватив витамина В2 – ФМН, как самостоятельно, так и в комбинации с НАФ, что обеспечило в обоих случаях эффективное и достоверно значимое торможение роста опухолей при однократном проведении процедуры.

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

разработаны и внедрены методы оценки биологической безопасности фотосенсибилизаторов, наноматериалов и вариантов их комбинированного использования для эффективного проведения ФДТ солидных опухолей;

определены дозозависимые фототоксические свойства ФМН, критическая концентрация, необходимая для ФДТ, при его системном введении;

создан алгоритм молекулярно-биологических исследований, востребованный для дальнейшего изучения биологических и фотохимических свойств ФМН и НАФ для биомедицинских применений;

представлены результаты, позволяющие расширить спектр коротковолновых фотосенсибилизаторов для ФДТ, не проявляющих системных токсических свойств, селективно накапливающихся в опухолевой ткани и эффективно нарабатывающих цитотоксические активные формы кислорода, в том числе посредством НАФ, обладающих способностью преобразовывать возбуждающее их длинноволновое излучение ближнего ИК-диапазона спектра в коротковолновое видимое и УФ излучение.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Работа выполнена на высоком методологическом уровне, на достаточном по количеству экспериментальном материале, использованные методики соответствовали поставленным задачам и показана воспроизводимость полученных результатов исследования.

Теория согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации, где изучались фотосенсибилизирующие свойства рибофлавина (витамина В2). Существенный прогресс в разработке и синтезе

нового класса наноматериалов – НАФ, преобразующих возбуждающее ИК-излучение в свет УФ и синего диапазона спектра, позволил в значительной мере расширить применимость фотосенсибилизаторов и предложить новую стратегию ФДТ с увеличенной глубиной терапии;

идея базируется на возможности ИК-опосредованной активации фотосенсибилизатора – ФМН, активирующегося светом УФ и синего диапазона спектра на глубине биоткани посредством НАФ;

использованы современные молекулярно-биологические методы. В качестве модельных систем *in vitro* использовали клеточные линии, выделенные из опухолевого материала пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, а также клеточные линии из американского каталога клеточных культур и тканей (ATCC). В качестве модельных систем *in vivo* использованы модели опухолей человека и животных;

установлены различия в накоплении фотосенсибилизатора опухолевыми и нормальными клеточными линиями, продемонстрировано его избирательное фототоксическое действие в отношении опухолевых клеток. Выполнена дифференциальная оценка вклада в цитотоксичность активных форм кислорода и продуктов фоторазложения ФМН. Показана регрессия ксенотрансплантата меланомы кожи в результате внутривенного введения ФМН с последующим облучением. Показано, что применение НАФ позволяет фотоактивировать ФМН при использовании лазерного излучения ближнего ИК диапазона спектра.

Авторские результаты качественно и количественно совпадают с результатами, представленными в отечественной и зарубежной литературе последних лет по изучению эффективности и механизмов действия ФДТ.

В работе **использованы** современное стандартизированное оборудование и методики оценки сбора и обработки исходной информации. Средние значения и среднеквадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакета программ Microsoft Excel. Для сравнения групп применяли U-критерий Манна – Уитни.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор самостоятельно провел

анализ научной литературы по теме диссертации и принимал непосредственное участие в постановке целей, задач и разработке плана исследования. Шолиной Н.В. проведена экспериментальная реализация плана исследований, анализ и обобщение полученных данных, подготовлены публикации, полностью отражающие все полученные результаты.

Диссертационная работа Шолиной Натальи Валериевны «Фотодинамическая терапия солидных опухолей с применением фотосенсибилизатора эндогенной природы и наноразмерных апконвертирующих фосфоров» является самостоятельным и законченным научно-квалификационным исследованием. Совокупность сформулированных в ней научных положений можно квалифицировать как решение актуальной задачи фундаментальной онкологии.

Представленная работа соответствует всем 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 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – Онкология.

Выводы диссертационного совета

Диссертационная работа Шолиной Натальи Валериевны «Фотодинамическая терапия солидных опухолей с применением фотосенсибилизатора эндогенной природы и наноразмерных апконвертирующих фосфоров», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельным и законченным научным исследованием. Совокупность сформулированных в ней научных положений можно квалифицировать как решение актуальной задачи клинической и

фундаментальной онкологии. Методологический подход, уровень и объем проведенных исследований достаточны. Научные работы, опубликованные по теме диссертации, и автореферат полностью отражают основные положения диссертационной работы.

Представленная работа Шолиной Натальи Валериевны соответствует всем 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 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

На заседании 24 июня 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Шолиной Наталье Валериевне ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 10 докторов наук по специальности 14.01.12 – онкология «медицинские науки», из утвержденного состава диссертационного совета 25 человек, проголосовали «за» присуждение ученой степени – 17, «против» присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней — нет.

Председатель диссертационного совета,
д.б.н., профессор

Красильников М.А.

Ученый секретарь диссертационного совета,
д.м.н., профессор

Кадагидзе З.Г.

24 июня 2021 г.

