

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.241.02, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22.01.2024 г. № 1

О присуждении **Цымбалу Сергею Алексеевичу**, гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему «Механизмы гибели опухолевых клеток при комбинировании медьсодержащих и тиоловых соединений» по специальности 1.5.4 – Биохимия принята к защите 16 ноября 2023 г., протокол №27, диссертационным советом 24.1.241.02, созданным на базе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14. Создание диссертационного совета утверждено приказом Минобрнауки России от 21 ноября 2022 г. №1531/нк.

Соискатель – **Цымбал Сергей Алексеевич**, 1997 года рождения, в 2020 году окончил Химико-биологический кластер Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО» (г. Санкт-Петербург) по специальности 19.04.01 «Биотехнология» с присвоением квалификации «Магистр». В 2020 году соискатель поступил и в 2023 году окончил очную аспирантуру при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО» по направлению 06.06.01 «Биологические науки». По окончании аспирантуры присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». С 2020 года и по настоящее время соискатель работает в должности младшего научного сотрудника Химико-биологического кластера Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Диссертация на соискание ученой степени кандидата наук выполнена в Химико-биологическом кластере Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Научный руководитель:

Штиль Александр Альбертович – доктор медицинских наук (специальность 14.01.12 «Онкология»), заведующий лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Калинина Елена Валентиновна – доктор биологических наук (03.00.04 «Биохимия»), профессор, профессор кафедры биохимии имени академика Т.Т. Березова Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования РФ.

Щулькин Алексей Владимирович – доктор медицинских наук (14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология»), доцент, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург) в своём положительном отзыве, подписанном заведующим кафедрой общей и биоорганической химии, доктором химических наук, доцентом **Семёновым Константином Николаевичем** и профессором кафедры общей и биоорганической химии, доктором биологических

наук, доцентом **Шаройко Владимиром Владимировичем**, указала, что диссертация Цымбала Сергея Алексеевича на тему «Механизмы гибели опухолевых клеток при комбинировании медьсодержащих и тиоловых соединений» представляет собой научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная задача по выявлению биохимических и молекулярно-клеточных особенностей реализации цитотоксического эффекта комбинацией различных медьсодержащих и тиоловых соединений в отношении опухолевых клеток дикого типа и с признаками сформированной лекарственной устойчивости.

По своей актуальности, научной новизне, практической значимости диссертация Цымбала Сергея Алексеевича на тему «Механизмы гибели опухолевых клеток при комбинировании медьсодержащих и тиоловых соединений» соответствует специальности 1.5.4. «Биохимия», отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), и ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. «Биохимия».

По теме диссертационной работы Цымбалом Сергеем Алексеевичем опубликовано **19** научных работ общим объёмом 9,71 печатных листа, из которых **3** – статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, **15** – тезисов, опубликованных в материалах российских и международных конференций и **1** – патент РФ № RU 2 721 771 С1 «Применение композиции наночастиц оксида меди и N-ацетилцистеина для индукции гибели клеток хронического миелоидного лейкоза» (Цымбал С.А., Татарский В.В., Виноградов В.В., Штиль А.А.).

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. O.A. Kuchur, **S.A. Tsymbal**, M.V. Shestovskaya, N.S. Serov, M.S. Dukhinova, A.A. Shtil Metal-derived nanoparticles in tumor theranostics: Potential and limitations //Journal of Inorganic Biochemistry. – 2020. –V. 209. – С. 111117;
2. **S.A. Tsymbal**, A.A. Moiseeva, N.A. Agadzhanian, S.S. Efimova, A.A. Markova, D.A. Guk, O.O. Krasnovskaya, V.M. Alpatova, A.V. Zaitsev, A.V. Shibaeva, V.V. Tatarskiy, M.S. Dukhinova, V.A. Ol'shevskaya, O.S. Ostroumova, E.K. Beloglazkina, A.A. Shtil. Copper-containing nanoparticles and organic complexes: metal reduction triggers rapid cell

death via oxidative burst //International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V.. 22. – №. 20. – С. 11065;

3. **S. Tsybal**, G. Li, N. Agadzhanian, Y. Sun, J. Zhang, M. Dukhinova, V. Fedorov, M. Shevtsov. Recent advances in copper-based organic complexes and nanoparticles for tumor theranostics // Molecules. – 2022. – V. 27. – №. 20. – С. 7066.

На автореферат диссертации поступило 5 отзывов от:

1. **Терентьева Алексея Алексеевича** – кандидата биологических наук, заведующего отделом кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук»;
2. **Давыдова Вадима Вячеславовича** – доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры биохимии и молекулярной биологии Института фармации и медицинской химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
3. **Исагулиевой Александры Кареновны** – кандидата биологических наук, младшего научного сотрудника лаборатории лучевых, биомедицинских и нанотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства;
4. **Антиповой Надежды Викторовны** – кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории мембранных и биоэнергетических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук;
5. **Поповой Ольги Владимировны** – кандидата биологических наук, доцента, доцента кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения

высшего образования «Марийский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзывах Терентьева А.А., Исагулиевой А.К. и Поповой О.В. имеются вопросы дискуссионного характера.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации основывался на высоком уровне их компетентности по разрабатываемой проблематике и на том, что они являются ведущими специалистами, имеющими публикации в области биохимии.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных
соискателем исследований:**

разработана научная концепция биохимических особенностей взаимодействия между медьсодержащими соединениями и восстановителями для индукции гибели клеток с лекарственной устойчивостью, а также молекулярно-биологических особенностей механизма этого процесса;

предложена оригинальная научная гипотеза о возможности применения исследованной комбинации медьсодержащих соединений и восстановителей (далее – комбинация) для преодоления лекарственной устойчивости опухолевых клеток при ограничении возможностей апоптогенной терапии;

доказана противоопухолевая активность указанной комбинации, которая в несколько сотен раз превосходит эффект применения каждого из соединений по отдельности и сопоставима с известными противоопухолевыми препаратами;

продемонстрирована биохимическая природа взаимодействия между соединениями на основе меди и отдельными органическими восстановителями, позволяющее обосновать применение этой комбинации для разработки противоопухолевой терапии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано наличие специфической электрохимической реакции между медьсодержащими и тиолсодержащими соединениями, которая приводит к увеличению цитотоксичности первых в несколько сотен раз в моделях *in vitro* и *in*

vivo за счёт генерации активных форм кислорода, повреждения плазматической мембраны и индукции гибели опухолевых клеток без активации апоптотических каскадов. Использован комплекс современных биохимических, молекулярно-биологических и клеточных (культивируемые линии) методик, а также исследований на животных;

сформулированы положения, обосновывающие природу и специфичность взаимодействия компонентов комбинации, а также механизм клеточной гибели, индуцированной комбинацией, и её эффективность для элиминации опухолевых клеток, резистентных к апоптогенным воздействиям;

раскрыты особенности взаимодействия между различными соединениями меди (наночастицы, соли, медьорганические комплексы) и N-ацетилцистеином, приводящие к генерации активных форм кислорода (АФК), и биохимические механизмы повреждения плазматической мембраны и выживаемость клеток в условиях *in vitro* и *in vivo*;

изучена степень усиления клеточной гибели при добавлении комбинации медьсодержащих веществ и N-ацетилцистеина, специфичность взаимодействия между компонентами, а также молекулярно-биологические признаки гибели в клетках в культуре или у лабораторных мышей;

проведена модернизация протоколов введения компонентов комбинации в брюшную полость мышей Balb/c для определения переносимости и противоопухолевой эффективности.

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

разработаны и внедрены требования к химической структуре, составу и соотношению компонентов комбинаций медьсодержащих соединений и восстановителей для оптимального противоопухолевого эффекта, подготовлены условия для проведения полноценных доклинических испытаний;

определены пределы и перспективы использования описанных комбинаций на практике;

углублены знания о биохимических аспектах взаимодействия медьсодержащих соединений с восстановителями для улучшения их практического применения;

представлены предложения по совершенствованию практического применения комбинаций, а также перспективы увеличения их противоопухолевой активности за счёт оптимизации и подбора структуры органических комплексов меди;

получен патент Российской Федерации на изобретение № 2 721 771 «Применение композиции наночастиц оксида меди и N-ацетилцистеина для индукции гибели клеток хронического миелоидного лейкоза» (зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 22.05.2020).

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

данные получены с использованием современного лабораторного оборудования на адекватных моделях с применением стандартизованных и доработанных протоколов и реактивов; работы с лабораторными животными проводились в соответствии с требованиями этического комитета;

теория построена на современных научных исследованиях и проверяемых данных, согласуется и дополняет имеющиеся теоретические и экспериментальные результаты относительно биохимических аспектов взаимодействия медьсодержащих и тиоловых соединений;

идея базируется на электрохимическом восстановлении меди в присутствии органических биосовместимых восстановителей (N-ацетилцистеина, аскорбиновой кислоты) с последующей генерацией АФК и реализацией противоопухолевого эффекта за счёт воздействия на плазматическую мембрану без активации апоптотических сигнальных путей;

использованы многочисленные результаты биохимических и молекулярно-биологических экспериментов *in vitro*, а также исследований на мышах Balb/c, проведённых в соответствии с российскими и международными этическими требованиями работы с лабораторными животными; имеется заключение этического комитета по месту выполнения работы.

установлен качественный и количественный эффект, оказываемый комбинацией на выживаемость культуры клеток, а также на скорость роста опухоли в асците у мышей Valb/c, за счёт окислительного повреждения мембраны опухолевых клеток и реализацией быстрого процесса гибели;

использованы стандартные методы получения и статистической обработки данных с применением пакета Microsoft® Office® Excel® 2016 и Graph Pad Prism 7.0. Репрезентативность выборок обеспечена достаточным количеством биологических повторов.

Материалы диссертационной работы были опубликованы в виде 3 статей в рецензируемых международных журналах и представлены в виде докладов на 15 конференциях в России и за рубежом. Результаты исследования были также оформлены в виде патента на изобретение № 2 721 771 «Применение композиции наночастиц оксида меди и N-ацетилцистеина для индукции гибели клеток хронического миелоидного лейкоза», Роспатент.

Личный вклад соискателя заключался в планировании и проведении всех экспериментов на культурах клеток, а также в непосредственном участии в проведении экспериментов на животных. Работа с искусственными мембранами и опыты *in vivo* проводились автором с участием соответствующих специалистов. Соискатель выполнил статистическую обработку, анализ данных и их представление в виде публикаций и докладов на конференциях. Лично соискателем подготовлен автореферат и диссертационная работа. Недостоверных сведений и некорректных заимствований не выявлено.

Диссертационный совет отмечает на основании отзывов ведущей организации, оппонентов, научной дискуссии, что диссертация Цымбала Сергея Алексеевича является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований обнаружен эффект усиления цитотоксичности медьсодержащих соединений при добавлении восстановителей. Среди изученных переходных металлов только соединения меди способны восстанавливаться N-ацетилцистеином, и с другой стороны, медь способна восстанавливать другие тиолсодержащие соединения (цистеин, глутатион) и аскорбат. Раскрыт механизм влияния комбинации соединений меди и восстановителей на клетки, реализующийся за счёт восстановления меди с

генерацией АФК, что приводит к окислительному повреждению плазматической мембраны и клеточной гибели без активации классических апоптотических каскадов. Исследования на животных не позволили зафиксировать увеличение продолжительности жизни животных, однако выявлено торможение роста опухоли, сравнимое с действием клинического препарата цисплатина. В совокупности в диссертации решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для биохимии: выявление механизмов клеточной гибели, индуцированной комбинацией медьсодержащих соединений и восстановителей.

Диссертация Цымбала Сергея Алексеевича на тему «Механизмы гибели опухолевых клеток при комбинировании медьсодержащих и тиоловых соединений» соответствует требованиям п. 9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения учёных степеней» № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия». В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 22 января 2024 года Диссертационный совет 24.1.241.02 принял решение присудить Цымбалу С.А. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 - Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 26 человек, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 31 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за - 26, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель Диссертационного Совета
24.1.241.02, академик РАН, профессор, д.м.н.



Д. Сели

Никитюк Д.Б.

Ученый секретарь Диссертационного Совета
24.1.241.02, к.б.н.

Шумакова А.А.

Шумакова А.А.

Дата оформления заключения: «22» января 2024 г.