

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Дата защиты 26 октября 2017 г. протокол № 35

О присуждении **Зонову Евгению Владимировичу**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы онколитического действия рекомбинанного апоптин-продуцирующего вируса осповакцины» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 23.08.2017 протокол № 29, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Зонов Евгений Владимирович, 1989 года рождения. В 2012 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

С 01.10.2012 г. по настоящее время Зонов Е.В. обучается в очной аспирантуре ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск.

Диссертация выполнена в группе микроскопических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины Сибирского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель: **Рябчикова Елена Ивановна** – доктор биологических наук, профессор, заведующий группой микроскопических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Лушникова Елена Леонидовна** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией цитологии и клеточной биологии ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии» г. Новосибирск
2. **Бгатова Наталия Петровна** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ультраструктурных исследований «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» - филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск. В своем положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией иммуногенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской

академии наук, д.б.н. Тараниным Александром Владимировичем и утвержденном д.б.н., директором ИМКБ СО РАН Демаковым Сергеем Анатольевичем, указано, что «Диссертация Зонова Е.В. «Механизмы онколитического действия рекомбинантного апоптин-продуцирующего штамма вируса осповакцины» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология» является законченным научным исследованием, в котором решена важная задача по исследованию механизмов противоопухолевого действия апоптин-продуцирующего штамма вируса осповакцины. Диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор Зонов Е.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология». Отзыв обсужден и утвержден на объединенном семинаре лаборатории иммуногенетики и отдела разнообразия и эволюции геномов ИМКБ СО РАН, протокол № 1 от 11 сентября 2017 г.»

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации, (общим объемом 50 страниц) в том числе 4 статьи, опубликованных в научных рецензируемых изданиях (входящих в базы цитирования Pubmed, Web of Science) и 3 тезиса в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. Galina Kochneva, Evgeniy Zonov, Antonina Grazhdantseva, Anastasiya Yunusova, Galina Sibolobova, Evgeniy Popov, Oleg Taranov, Sergei Netesov, Peter Chumakov, Elena Ryabchikova. Apoptin enhances the oncolytic properties of vaccinia virus and modifies mechanisms of tumor regression // *Oncotarget*. – 2014. – Т.5. - No 22. – С. 11269-11282.

2. Юнусова А.Ю., Зонов Е.В., Кочнева Г.В., Рябчикова Е.И. Морфология ксенографтов карциномы А431 человека у мышей линии nude // Вестник НГУ. – 2014. – Т.12. – №3. – С. 42-48.
3. Evgeniy Zonov, Galina Kochneva, Anastasiya Yunusova, Antonina Grazhdantseva, Vladimir Richter, Elena Ryabchikova. Features of the Antitumor Effect of Vaccinia Virus Lister Strain // Viruses. - 2016. – Т.8. - No1.
4. Зонов Е.В., Кочнева Г.В., Тупицына А.В., Рябчикова Е.И. Противоопухолевый эффект апоптин-продуцирующего рекомбинантного штамма осповакцины *in vivo* связан с блокированием митотического деления опухолевых клеток // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. - №4. - С. 154-159.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные. Отзывы прислали:

1. Беляева Наталия Николаевна, доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории цитогистологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России (г. Москва).
2. Мильто Иван Васильевич, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).
3. Гончарова Елена Павловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск). «При чтении автореферата возникает ряд замечаний. Так автор заявляет о принципиальной возможности получения терапевтического эффекта онколитического вируса без вовлечения эффекторных клеток всей иммунной системы, тогда как в работе были проанализированы только моноциты, гранулоциты и Т-клетки в исследуемых группах животных. Также автор не оценил протективный потенциал рекомбинантного апоптин-

продуцирующего штамма VVdGF-ApoS24/2 ВОВ на животных, имеющих интактную иммунную систему, что было необходимо сделать, предполагая создание новых противоопухолевых препаратов на основе этого штамма.»

4. Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной Биологии и биофизики» (г. Новосибирск).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области экспериментальной и клинической онкологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране в области разработки новых подходов к лечению опухолевых заболеваний.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **доказано** наличие выраженного противоопухолевого эффекта рекомбинантного апоптин-продуцирующего штамма вируса осповакцины на клетки карциномы человека и мыши *in vivo*, который связан как с действием апоптина, экспрессируемого в составе его генома, так и природными онколитическими свойствами вируса.

Предложена гипотеза об альтернативном механизме онколитического действия апоптина в составе рекомбинантного вируса осповакцины, который связан не с индукцией апоптоза опухолевых клеток, а с остановкой их клеточного цикла в S-фазе.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые методами световой и электронной микроскопии **изучены** морфологические характеристики репликации рекомбинантного апоптин-продуцирующего штамма VVdGF-ApoS24/2 вируса осповакцины в клетках карциномы A431 человека и в клетках асцитной карциномы Эрлиха мышей *in vivo*.

Доказано, что репликация штамма VVdGF-ApoS24/2 вируса осповакцины

в клетках карциномы человека и мыши сопровождается формированием морфологически полноценных вирионов, а скорость репликации зависит от типа опухолевых клеток. **Доказано** также, что несмотря на менее интенсивную репликацию штамма VVdGF-ApoS24/2 вируса осповакцины в клетках карциномы по сравнению с исходным штаммом Л-ИВП ВОВ, его противоопухолевый эффект *in vivo* достоверно выше.

Впервые **изучено** влияние апоптин-продуцирующего штамма VVdGF-ApoS24/2 вируса осповакцины на морфологические характеристики клеток карциномы человека и мыши.

Доказано, что встройка трансгена апоптина в геном вируса осповакцины влияет на организацию цитоскелета клеток карциномы A431 человека. **Доказано**, что эффект белка апоптина в составе штамма VVdGF-ApoS24/2 на клетки карциномы Эрлиха связан со снижением пролиферативной активности клеток опухоли в результате остановки их клеточного цикла в S-фазе.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что представлены новые данные об эффектах встройки трансгена апоптина в геном вируса осповакцины, которые могут быть полезны при разработке новых противоопухолевых препаратов на основе онколитических вирусов, и показана принципиальная возможность получения отчетливого терапевтического эффекта онколитического вируса без вовлечения эффекторных клеток иммунной системы, что важно для разработки противоопухолевых препаратов для больных с явлениями иммунодефицита.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы и подходы клеточной биологии, иммуногистохимии, световой и электронной микроскопии, методы культивирования опухолевых клеток *in vitro*, а также морфометрические методы, что позволило изучить влияние интратуморального введения апоптин-продуцирующего вируса на макроскопические характеристики и структуру ткани опухолевых узлов, а также оценить влияние репликации вируса на внутриклеточные структуры опухолевых клеток.

Оценка достоверности результатов исследования показала высокую воспроизводимость полученных данных и наличие всех экспериментальных контролей. Интерпретация результатов о противоопухолевых эффектах апоптин-продуцирующего вируса осповакцины учитывает данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора состоит в проведении светооптического и ультраструктурного исследований морфологических характеристик репликации рекомбинантного штамма вируса осповакцины в опухолевых узлах карцином человека и мыши, иммуногистохимического выявления антигенов на парафиновых срезах, морфометрии, статистической обработке полученных данных, а также интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций по выполненной работе.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 1 «Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, строения и функции клеток и тканей», п. 5. «Исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов», п. 6 «Молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных, малоклеточных и одноклеточных организмов в норме и патологии» и п. 7 «Разработка экспериментальных моделей, методов цитологической диагностики, морфометрии, маркерной гисто- и цитохимии и др.» паспорта специальности 03.03.04 — клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Зонова Е.В. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям пункта 9, абзац 2, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842. На заседании 26 октября 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Зонову Евгению Владимировичу учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 6 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Н.Б. Рубцов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

26.10.2017 г.