

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.002.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 14.06.2023 № 08/2023

О присуждении Никольскому Александру Аркадьевичу, гражданину
Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль экспрессии гена *Stat3* в нейтрофильном воспалении
при бронхиальной астме» по специальности «3.2.7. Аллергология и
имmunология» принята к защите 5 апреля 2023 года (протокол заседания
№6/2023) диссертационным советом 68.1.002.01, созданным на базе ФГБУ
«ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, по адресу: 115522, г. Москва,
Каширское шоссе, д. 24 (приказ № 206/нк от 14.02.2023 г.).

Соискатель Никольский Александр Аркадьевич, 31 июля 1995 года
рождения. В 2019 году соискатель окончил Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московская
государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА
имени К.И. Скрябина Министерства сельского хозяйства Российской
Федерации, ветеринарно-биологический факультет, по специальности
«Биология». Работает младшим научным сотрудником в ФГБУ «ГНЦ Институт
иммунологии» ФМБА России.

Диссертация выполнена в лаборатории противовирусного иммунитета
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Научный руководитель: доктор биологических наук Шиловский Игорь

Петрович, заместитель директора по науке и инновациям ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Официальные оппоненты: Ненашева Наталья Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой аллергологии и иммунологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации; Козлов Иван Генрихович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры организаций и управления в сфере обращения лекарственных средств Института последипломного образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном отзыве, подписанным заведующей кафедрой клинической аллергологии и иммунологии института докт. мед. наук, профессором Т.И. Гришиной и утвержденным проректором института докт. мед. наук, профессором РАН О.В. Левченко, указала, что «диссертационная работа Никольского Александра Аркадьевича «Роль экспрессии гена *Stat3* в нейтрофильном воспалении при бронхиальной астме» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для аллергологии и иммунологии: создана модель кортикостероид-резистентной нейтрофильной бронхиальной астмы у мышей, которая точно воспроизводит

основные характеристики этого заболевания; доказана перспективность применения феномена РНК-интерференции для целевого воздействия на ключевые факторы патогенеза бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления; разработаны молекулы миРНК для успешного подавления экспрессии гена *Stat3* *in vitro* и *in vivo*; создан комплекс, состоящий из молекул миРНК и катионного пептида-носителя LTP, который обеспечивает эффективную доставку миРНК к клеткам-мишеням и демонстрирует высокую активность *in vitro* и *in vivo*. Диссертация Никольского А.А. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология»».

Соискатель имеет 9 опубликованных работ в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций.

Наиболее значимые работы:

1. Nikolskii A., Shilovskiy I., Barvinskaia E., Korneev A., Sundukova M., Khaitov M. Role of STAT3 transcription factor in pathogenesis of bronchial asthma. Biochemistry (Moscow). 2021. T. 86. № 11. C. 1489–1501.
2. Shilovskiy I., Nikolskii A., Kovchina V., Vishniakova L., Yumashev K., Barvinskaia E., Kaganova M., Korneev A., Turenko V., Brylina V., Petukhova O., Kudlay D., Khaitov M. Murine model of steroid-resistant neutrophilic bronchial asthma as an attempt to simulate human pathology. Journal of Immunological Methods. 2022. T. 505. C. 1-14.

На автореферат диссертации поступил отзыв от Полевщикова Александра Витальевича – доктора биологических наук, профессора, заведующего отделом иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» и от Петричук

Светланы Валентиновны – доктора биологических наук, профессора, главного научного сотрудника лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Отзывы на автореферат содержат высокую оценку актуальности представленного исследования, научной новизны и практической значимости полученных результатов. Отмечается, что диссертационная работа выполнена на высоком квалификационном научном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области исследований, представленных в диссертационной работе, и отсутствием совместных работ и договорных обязательств с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция применения интерференции РНК для подавления экспрессии гена *Stat3*, как инновационного подхода к терапии стероид-резистентной бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления;

предложена оригинальная научная гипотеза об использовании комплекса миРНК и пептида-носителя в качестве потенциального лекарственного препарата для лечения бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления;

доказана перспективность использования комплекса, включающего в себя миРНК, ингибирующую экспрессию гена *Stat3*, и катионный пептид-носитель LTP;

введена в экспериментальное использование оригинальная модель стероид-резистентной бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления

на мышах для проведения лабораторной оценки комплекса миРНК и пептида-носителя.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что использование феномена РНК-интерференции позволяет эффективно уменьшать экспрессию генов, ответственных за воспалительный процесс;

применительно к проблематике диссертации эффективно, с получением обладающих новизной результатов, использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе культивирование и стимуляция клеток, неинвазивная плетизмография, ИФА, ОТ-ПЦР в реальном времени, гистологический анализ ткани легких и др.;

изложены доказательства, подтверждающие специфическую активность комплекса, состоящего из миРНК, подавляющей экспрессию гена *Stat3*, и катионного пептида-носителя LTP, ингаляции которым приводят к уменьшению Th17-зависимого нейтрофильного воспаления в ткани легких;

раскрыты эффекты вызываемые ингибированием экспрессии гена *Stat3* в контексте бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления, что может сыграть важную роль в разработке методов лечения данного заболевания, а также выявлена связь этих эффектов с Th17-иммунным ответом;

изучено влияние фактора транскрипции STAT3 на активацию Th17- зависимого нейтрофильного воспаления при бронхиальной астме, которое сохраняется при неэффективности терапии кортикоステроидами;

проведена модернизация процесса моделирования нейтрофильного воспаления при бронхиальной астме на лабораторных мышах.

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

разработана и внедрена модель на животных для оценки эффективности лекарственных препаратов при лечении бронхиальной астмы с нейтрофильным воспалением;

определены пределы и перспективы практического использования теории о применении феномена РНК-интерференции для лечения бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления, устойчивой к кортикоステроидам;

созданы новые молекулы миРНК, которые показали высокую способность специфично ингибировать экспрессию гена *Stat3*, что может быть перспективным подходом к терапии бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления, развивающейся через механизмы, связанные с Th17-клетками;

представлены рекомендации по использованию гена *Stat3* как потенциальной мишени для разработки новых лекарственных препаратов, основанных на феномене РНК-интерференции, для более эффективной терапии бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления, которая не реагирует на кортикостероиды.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном и откалиброванном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизованным методикам, основные результаты воспроизведены минимум в трех экспериментах, показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях;

теория построена на известных проверяемых фактах о клинико-патогенетических подходах к лечению бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на обобщении передового опыта исследований по созданию терапевтических средств для лечения бронхиальной астмы;

использовано сравнение полученных автором данных и данных отечественных и зарубежных исследований по рассматриваемой тематике;

установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки экспериментальных данных; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования, проведении анализа современной научной литературы по теме исследования, непосредственном участии в проведении научных экспериментов и получении первичных данных, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы, на которые соискатель Никольский А.А. ответил и привел собственную аргументацию:

Вопрос: Поясните, пожалуйста, почему была выбрана линия клеток L929? Каким уровнем STAT3 характеризуется клеточная линия L929?

Ответ: Это клеточная линия была выбрана, так как конститутивно экспрессирует STAT3, как раз который мы и планировали подавлять. Уровень экспрессии в этих клетках выше среднего.

Вопрос: В вашем исследовании *in vivo* как вы думаете, в какие клетки проникала миРНК?

Ответ: Мы считаем, что при ингаляции комплекса его компоненты проникают как в эпителиальные клетки, так и в лимфоциты. Также мы полагаем, что миРНК могут проникать в эндотелиальные клетки, макрофаги и фибробlastы легких.

Вопрос: Как вы предполагаете, насколько длительным будет эффект от ингаляции вашего препарата?

Ответ: Отдельных исследований на этот счет мы не проводили, так как это не входило в цели диссертации. Но по данным литературы эффект РНК-интерференции может длиться от нескольких часов до нескольких дней.

Вопрос: Как вам удалось избежать нежеланных эффектов при конструировании молекул миРНК?

Ответ: Off-target-эффекты связаны с нацеливанием миРНК на другие гены-мишени. Чтобы избежать этих эффектов, при проектировании мы выбраковывали те молекулы миРНК, которые имели идентичность к другим генам более чем на 85%.

Диссертация Никольского А.А. «Роль экспрессии гена *Stat3* в нейтрофильном воспалении при бронхиальной астме» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение актуальных задач, имеющих существенное значение для аллергологии и иммунологии: разработана модель кортикоид-резистентной бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления у мышей, воссоздающая основные проявления патологии; доказана перспективность применения феномена РНК-интерференции для целевого воздействия на ключевые звенья патогенеза бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления; сконструированы молекулы миРНК, способные эффективно подавлять экспрессию гена *Stat3* *in vitro* и *in vivo*; разработан комплекс, состоящий из молекул миРНК, подавляющих экспрессию гена *Stat3*, и катионного пептида-носителя LTP, способного транспортировать нуклеиновые кислоты в различные типы клеток, обеспечивающий эффективную адресную доставку миРНК к клеткам-мишеням; установлена его активность *in vitro* и *in vivo*.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016 г. № 335), а ее автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология».

На заседании 14.06.2023 года диссертационный совет принял решение присудить Никольскому А.А. ученую степень кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 19 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за – 19, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета
член-корр. РАН, доктор медицинских наук,
профессор



М.Р. Хайтов

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук



Г.О. Гудима

15.06.2023 г.