

## **СТЕНОГРАММА**

заседания диссертационного совета Д 002.019.01  
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук

25 июня 2020 года

Защита диссертации  
на соискание учёной степени кандидата химических наук  
**Третьяковой Дарьи Сергеевны**

**Взаимодействия противоопухолевых липосом, несущих липофильные  
пролекарства в бислое, с компонентами плазмы крови**

Специальность:  
02.00.10 — Биоорганическая химия

Москва-2020

## СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 25 июня 2020 года.

Председатель

диссертационного совета

д.х.н., академик РАН Иванов Вадим Тихонович

Учёный секретарь

диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 6.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
4. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
6. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7. Академик РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
8. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
9. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
10. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
11. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
12. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
13. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
14. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
15. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
16. Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
17. Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
18. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
19. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
20. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)
21. Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)

**Иванов Вадим Тихонович:** Речь идет о защите Дарьи Сергеевны Третьяковой кандидатской диссертации на соскание ученой степени кандидата химических наук по специальности Биоорганическая химия. И Владимир Александрович доложит нам материалы личного дела.

**Олейников Владимир Александрович:**

*(Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя)*

Да, значит, Дарья Сергеевна Третьякова, Российская Федерация, окончила Химфак МГУ в 2015 году по специальности Химия. В 2019 году окончила обучение в аспирантуре нашего института по направлению Химические науки. С 2015 по 2019 г. техник-лаборант, затем инженер. С 2019 г. по настоящее время – младший научный сотрудник лаборатории химии липидов нашего института. Кандидатский экзамен по специальности Биоорганическая химия сдан с оценкой отлично. Работа выполнена в лаборатории химии липидов нашего института, научный руководитель диссертационной работы – Елена Львовна Водовозова, зав. лабораторией химии липидов. По теме диссертации опубликовано 5 статей. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК 21 апреля 2020 года и все необходимые документы в деле есть. Всё.

**Иванов Вадим Тихонович:** Какие-то замечания, коррекции? Не вижу таковых, а посему даю слово соискателю – Дарья Сергеевна, Вам 20 минут на доклад.

**Третьякова Дарья Сергеевна:**

*(Излагает основные положения диссертационной работы)*

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо за доклад. Давайте посмотрим, есть ли вопросы по поводу того, что было доложено. Да, прошу к микрофону.

**Свирщевская Елена Викторовна:** Да я громко говорю.

**Иванов Вадим Тихонович:** Все равно, тем не менее.

**Свирщевская Елена Викторовна:** Чтобы запись была.

**Олейников Владимир Александрович:** Чтобы запись была.

**Свирщевская Елена Викторовна:** Вы смотрели захват фагоцитами только метотрексатных?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Да.

**Свирщевская Елена Викторовна:** А мелфалановые?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Так как параллельно с мелфалановыми мы проводили другие эксперименты, мы ещё не успели, но собираемся тоже посмотреть

**Свирщевская Елена Викторовна:** Конечно будет захват и это не только метотрексатные группы, это просто большие объекты. Они – фагоциты, они это умеют делать. И тоже мне немного странно, почему метотрексат активирует комплемент, а мелфалан нет.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** В тестах ИФА, которые на С3 связывание – на остаточную гемолитическую активность, он не проявлялся. Соответственно, лизирующий мембрану комплекс, который будет последний в системе комплемента, не находили ни для мелфалановых, ни для метотрексатных. Мелфалановые связывают небольшое количество С3 на блоте, но я вижу полностью интактную альфа цепь и бета цепь и, причем, при очень долгой выдержке. Насколько это специфическое взаимодействие именно с поверхностью данных липосом я не могу сказать.

**Свирщевская Елена Викторовна:** А пустышки?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Пустышки тоже связывают чуть-чуть.

**Свирщевская Елена Викторовна:** Примерно как мелфалан, да?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Ну как-то так, да.

**Свирщевская Елена Викторовна:** Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Есть ли ещё вопросы? Да, прошу.

**Ефремов Роман Гербертович:** Мой вопрос касается пункта 4 выводов. То есть, довольно странно, что вы использовали водорастворимый белок альбумин для того, чтобы исследовать, насколько внедренные в состав бислоя экранирующие молекулы защищают липидный бислой. У вас есть данные о том, что альбумин вообще с липидным бислоем, даже модельным, или с клеточной мембраной взаимодействует?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Вот в литературе описывается, что во-первых, это зачастую основной компонент как раз белковой короны, и в старых работах, мне кажется, середины 2000-х показывали, что он может заглубляться в мембрану.

**Ефремов Роман Гербертович:** Ну, про альбумин очень много известно и всегда как бы это классический водорастворимый глобулярный белок. Потом вы используете ИК спектроскопию для того, чтобы оценить воздействие белка на мембрану – липидный бислой, в котором ещё много там примесных молекул находится, и анализируете  $\text{CH}_2$  колебания в ИК-спектре, ну плюс Амид I ещё конечно тоже смотрите, вот, получается, что, как вы предполагаете, на поверхности мембраны идет глобальный конформационный переход.

То есть белок сильно перестраивается, меняется содержание бета-структуры и так далее. Что это такое? Вот такие эффекты до сегодняшнего дня наверно мало кто наблюдал в альбумине причем? И правильно ли Вы учитываете вклад в спектры вот этих примесных компонент, когда вы говорите о  $\text{CH}_2$ -колебаниях, помимо липидов, ацильных цепей, там же большой вклад дают и ваши молекулы и боковые цепи белка в этой области тоже в спектре наблюдаются? Спасибо.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Наши молекулы они же тоже находятся в бислое, поэтому мы считаем, что это суммарный пик колебаний всех молекул. Они, пролекарство и липиды, они все имеют в своей структуре хвосты. То есть у каждого из них есть  $\text{CH}_2$  колебания, дополнительные будут ещё вот здесь (*указывает фрагменты структур на слайде*).

**Р.Г. Ефремов:** Ну то есть вы про Амид I сейчас говорите, правильно? Про контур Амид I да?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Нет, я говорю про.

**Ефремов Роман Гербертович:** Про пептидные связи? Это Амид I.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Нет, не про Амид I.

**Ефремов Роман Гербертович:** Про  $\text{CH}_2$ .

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Да, про  $\text{CH}_2$ . Мы считаем, что у них у всех здесь есть хвосты (*обсуждение спектра на слайде*), соответственно у них у всех есть  $\text{CH}_2$  группы. Вклад отдельных компонентов в спектр довольно маленький, то есть, например...

**Ефремов Роман Гербертович:** А как вы это можете оценить? Вы видите интеграл, интегральную картину. Плюс  $\text{CH}_2$  группы алифатических цепей в белке. То есть у вас картина очень сложная, и вот как разграничить вклад индивидуальных компонент, вот это интересно.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** (*Обсуждение ИК-спектра на слайде презентации*) Я вот такой спектр вижу, соответственно, я вот здесь считаю, что это все мои  $\text{CH}_2$ , которые я анализирую, они сдвигаются. Амид I, я считаю вот он, потому как у него изменяются плечи. Соответственно только по нему я сужу о белке.

**Ефремов Роман Гербертович:** У вас же пептидные связи, если я правильно понимаю, есть и в ваших экранирующих молекулах?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** В одной, да.

**Ефремов Роман Гербертович:** Они тоже туда относятся?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Они тоже туда вносят, но, например, проблема в том, что в полярной части я не могу увидеть, хорошо увидеть, даже колебания валентные того же яФХ - группу холина, у него очень маленький пик. Соответственно мы считали, что если оно вносит, то оно вносит меньше, относительно других. Для пептидолипида, у которого есть, как мы считаем, есть вот эти колебания с белком. Например, у него спектр, вот этот ИК интегральный в участке изменения структуры, он вообще не отличается, есть ли у нас в липосомах мелфалановое пролекарство или нет в липосомах мелфаланового пролекарства. В нем может быть что-то дополнительное в Амид I. Для остальных я считаю, что у меня Амид I отражает вот только чисто альбумин, других нет. И в литературе наблюдали, во-первых, что изменение структуры его, тоже методом ИК на поверхности золотых наночастиц, что у него возрастает вклад бета в белковой короне. И еще также в общем в обзоре, авторы писали, что изменения как раз, вот эти изменения в белке, в довольно сложной многоуровневой короне, когда белок может связываться не только с поверхностью бислоя, но и с другими компонентами короны, вызывают изменения структуры белков и это тоже провоцирует захват неправильно свернутых, с точки зрения клеток, в кровотоке белков.

**Ефремов Роман Гербертович:** Понятно, то есть получается интересная ситуация, вы видите очень сильные изменения в водорастворимом белке, который может быть даже и сорбируется, но при этом считаете, что бислой у вас не реагирует.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Нет, мы считаем, что он реагирует. В случае без экранирующих молекул.

**Ефремов Роман Гербертович:** Без молекул, да.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** В остальных вот только в пептидолипиде что-то происходит, возможно, как мы считаем, вот здесь это как раз (*Обсуждение спектра на слайде*).

**Ефремов Роман Гербертович:** Понимаете, 2 обратных сантиметра при таком уровне сигналом это погрешность, которая не ловится. Ладно, я понял, спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Да, Сергей Михайлович?

**Деев Сергей Михайлович:** Спасибо за фундаментальное исследование ваших липосом с компонентами иммунной системы. Но как только человек произносит “противоопухолевые лекарства”, первый вопрос – это накопление в печени, тем более таких вещей, как липофильные молекулы, липосомы. Ставили ли Вы такую задачу, и если не ставили, то почему? И я бы хотел узнать, как влияние модификаций на ваши липосомы сказывается на захват печени? Спасибо.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Вот для всех вот этих вариантов липосом (*указание на слайд*) мы ещё не ставили экспериментов *in vivo*, у нас нет данных по захвату печени, это только с компонентами крови. И конечно это хотелось бы дальше проанализировать. Но для липосом

с ганглиозидом и с пептидолипидом вот это все данные, которые у нас есть, дальше в экспериментах мы ещё не продвинулись.

**Иванов Вадим Тихонович:** Скажите, я в этой области не работаю, но тем не менее, мне просто интересно, ваши конъюгаты метотрексата либо мелфалана с липидами, это промышленный, коммерческий препарат, либо надо в лаборатории получать?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Для пролекарства мелфалана была разработана методика синтеза, которая может выполняться на промышленном масштабе. Синтезируем для наших целей мы их в лаборатории. Но для мелфалана есть методика для производства.

**Иванов Вадим Тихонович:** То есть в лаборатории, но это не входит в вашу диссертацию само получение этих липоконъюгатов?

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Перед началом работы я получала определенное количество конъюгата метотрексата, с которым я потом работала, но так как это давно разработанная в лаборатории методика и давно используемая, и она уже была и опубликована и входила в несколько других диссертаций, в презентации она не отражена.

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё понятно, спасибо! Есть ещё вопросы? Прошу.

**Бовин Николай Владимирович:** Возвращаясь к альбумину, когда Вы инкубируете липосомы с альбумином, это ведь процесс не мгновенный, это происходит какое-то количество времени и известно, что альбумин может захватывать липофильные молекулы и вытаскивать их скажем из клеточной мембраны, наверно из липосом тоже. А рассматривали вы такую ситуацию, что в процессе такой инкубации, прежде чем этот альбумин сорбируется на поверхность липосомы, он сначала что-то делает с этой липосомой – обедняет её какими-то компонентами, и тот эффект, который вы наблюдаете, он наблюдается не с нативными липосомами, на которые сорбировался альбумин, а уже на частично, скажем так, покалеченными альбумином липосомах.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Спасибо за вопрос. Нет, мы таких предварительных экспериментов не проводили. Для липосом в литературе мы находили данные, что например его сорбция в некоторых случаях может замедлять выход чего-то из внутреннего водного объема и из бислоя, потому что у него довольно сильное связывание. Поэтому в течение там тех же 15-20 минут инкубации мы первоначально не проверяли, может ли он что-то из бислоя вынуть. Косвенно, очень косвенно, считая что альбумин во многом, по литературным данным, это один из основных компонентов белковой короны, в других экспериментах с флуоресцентно меченным пролекарством мелфалана мы не наблюдали, чтобы у нас из каких-то липосом кроме ПЭГ это пролекарство выходило. Также мы пытались исследовать возможность высвобождения лекарства не с альбумином, а в цельной сыворотке, методом AF4 - это асимметричный поток, когда липосомы движутся в потоке с сывороткой и прикладывается перпендикулярный поток. То, что меньше, выходит раньше. И первым как раз из канала должен выходить альбумин. И если он вынул пролекарство, допустим я могу его увидеть, с пролекарством. Вот в таких экспериментах изменение пика альбумина я не видела, чтобы было заметного высвобождения лекарства из бислоя. В пределах погрешности этот пик остается всегда одинаковый, но у нас не так много пролекарства - 10 процентов.

**Иванов Вадим Тихонович:** Вопросы иссякли или ещё есть? Больше не вижу. Спасибо, можете немного отдохнуть. Значит, дальше у нас по правилам я должен дать слово научному руководителю для характеристики диссертанта. Елена Львовна здесь? Здесь.

**Водовозова Елена Львовна (научный руководитель):** Да. Уважаемые коллеги, хотя я должна характеризовать только личные качества диссертанта, но я все-таки не премину воспользоваться возможностью и сказать пару предложений о том что объект для изучения очень сложный. Липосомы как супрамолекулярные системы, которые очень и очень давно вроде как изучаются, но методология- подходы к изучению стабильности таой системы, тем более в ещё более сложной системе – плазмы крови до сих пор не являются универсальными, четкими и разработанными. Поэтому подходов очень много. Это было сейчас видно из тех вопросов, которые последовали по данной диссертации. Я хочу сказать, что Дарья в первую очередь очень импонирует мне и другим сотрудникам лаборатории тем, что она берется, можно сказать, бесстрашно за изучение такого непростого объекта с привлечением самых разнообразных методов: методов спектроскопии, метода динамического светорассеяния и вот тот метод, последний, о котором она упомянула, так называемая AF4. Это некая установка, разработанная в Университете Южной Дании в городе Оденсе, где она побывала в прошлом году и успешно прошла стажировку в рамках стипендии FEBS. И там действительно, оказалось, что наши объекты, а конкретно мелфалановые липосомы, очень заинтересовали датских коллег, потому что оказалось, что в такой модельной установке, позволяющей на тонком уровне изучать стабильность системы в модельной системе плазмы крови, они действительно оказались очень стабильны. Поэтому я очень рассчитываю на то, что вскоре выйдет наша публикация с ними с совместной работой и это исследование будет продолжаться. Дарья исключительно погруженная в исследовательскую деятельность личность. Мы очень благодарны в связи с этим кстати кафедре энзимологии Московского государственного университета, химического факультета. Потому что было ясно, когда она пришла к нам на выполнение уже диссертационной работы в рамках аспирантуры, было ясно, что человек готов и понимает, что такое фундаментальные исследования, как экспериментальные, так и кстати теоретические. Она достаточно быстро осваивает различные программные пакеты для использования методик, самых современных, и, ещё раз могу повторить, берется за это бесстрашно и с большим увлечением. Безусловно она, особенно вот к последнему году аспирантуры, стала проявлять ещё большую заинтересованность в изучении объекта, привлечении разнообразных методик, чтении литературы – это все безусловно само собой. Так что я могу сказать, что в лице Даши наша небольшая лаборатория приобрела конечно очень ценного сотрудника. Она очень хорошо вписалась в команду и вообще способна к командному методу работы, при этом исключительно обладает большими способностями выдвижения каких-то своих инициатив по корректировке, по отстаиванию мнения в интерпретации результатов. Так что мои впечатления и мои пожелания для неё на будущее – использовать тот потенциал, который она уже накопила и продолжает, по-моему, с ускорением накапливать, для занятий научно-исследовательской работой. Благодарю за внимание.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Владимир Александрович, давайте отзывы и заключение.

**Олейников Владимир Александрович:** Да. Настала очередь огласить отзывы, которые поступили, ну, во-первых, заключение организации.

*(Зачитывает заключение организации, в которой выполнена диссертация, ИБХ РАН)*

Работа выполнена в нашем институте, ну и традиционно в заключении некие биографические данные, что она окончила Химфак МГУ в 2015 году, что научный руководитель, только что выступившая Елена Львовна Водовозова зав. лабораторией химии

липидов. Тема диссертации утверждена ученым советом в первой версии ещё в 2015 году, она так немножечко по-другому называлась, но потом видимо так сказать под влиянием тех изменений, тех новых результатов, которые диссертант получила, она была скорректирована в марте этого года и соответственно принято заключение на семинаре, на котором рассматривалась эта диссертация. Я не буду подробно останавливаться на всем этом поскольку мы уже слышали довольно много, в докладе в частности. Что главное, основные результаты работы получены лично автором и подробно описаны: разработаны экспериментальные подходы для изучения целостности мембран липосом, осуществлен трехстадийный синтез, проведены исследования связывания липосом с белками плазмы крови, изучена стабильность липосом различного состава, ну и так далее. Кроме того, в работе были использованы материалы, полученные другими сотрудниками отдела химической биологии гликанов и липидов, в частности, синтез конъюгата олигоглицина с фосфатидилхолином был осуществлен старшим научным сотрудником Тузиковым Александром Борисовичем и опять же фосфолипидные метки были синтезированы Иваном Болдыревым. Ну и далее перечисляется, тут опять же звучат замечательные слова, что впервые установлено, что введение в мембрану липосом пролекарства стимулирует их фагоцитоз, впервые показано, что ганглиозид GM1 и пептидолипид SMG-PE стабилизирует липосомы с пролекарством мелфалана в сыворотке крови человека, впервые показано, что ганглиозид GM1 и пептидолипид лучше чем фосфатидилхолин защищают мембрану липосом на основе яичного фосфатидилхолина от разрушения белками плазмы. Дальше про пегилирование и в завершении пишется, что работа выполнена на высоком экспериментальном методологическом уровне, отличается тщательным подходом в постановке экспериментов, материал диссертации опубликован в 5 статьях и опять же рекомендована она к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 Биоорганическая химия. Заключение принято на заседании открытого семинара отдела химической биологии гликанов и липидов нашего института, присутствовало 19 человек, все “за”. Соответственно оформлено протоколом и подписано старшим научным сотрудником отдела химической биологии гликанов и липидов Тузиковым и зам. директора ИБХ РАН Ямпольским, утверждено директором нашего института академиком Александром Габитовичем Габитовым. Это что касается заключения организации.

Далее, ведущая организация дала отзыв полностью положительный. Ведущая организация – это Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

*(Зачитывает отзыв ведущей организации).*

Опять же пишется, что работа Третьяковой связана с решением важной научно-практической задачи – разработкой системы доставки противоопухолевых лекарств с целью снижения их общей токсичности для организма человека. Далее развивается эта тема и подтверждается, что работа очень актуальна и обладает большой новизной. Сформулирована цель здесь, далее намечены следующие задачи, описано в отзыве, я не буду подробно останавливаться. Далее, во введении диссертант дает общее обоснование актуальности исследования, обзор литературы посвящен всестороннему рассмотрению имеющихся на сегодня сведений о взаимодействиях наночастиц, в том числе липосом с компонентами плазмы и крови в свете влияния взаимодействий на биораспределение и иммуногенность наночастиц. В конце обзора имеется заключение – полезный раздел, который не всегда встречается в обзорах литературы кандидатских диссертаций. В целом, проведенный автором анализ публикаций дает



достаточно полное представление по исследуемому вопросу. Материалы и методы: описанные и использованные в работе инструментальные методы – перечислены эти методы. Результаты и их обсуждение: представлены оригинальные экспериментальные данные и их интерпретации. Изложенный материал позволяет сделать вывод, что поставленные в диссертационной работе цели и задачи были выполнены. Основные результаты работы состоят в следующем: здесь практически повторяются выводы диссертации, поэтому я опять же это опускаю. И резюмируя можно сказать, что диссертационная работа Третьяковой была выполнена на очень высоком методическом уровне, выводы соответствуют изложенным результатам. По материалам диссертации есть ряд вопросов и замечаний. Первое: в разделах изучения целостности липосом с помощью метода вытекания кальцеина разброс данных на графиках указан только на рисунках 28А и 30, причем не указан тип ошибки SD и SE и число измерений. На рисунках 13, 14 и 31 разброс данных на кривых отсутствует. Второе: в разделе исследований взаимодействия сывороточного альбумина с липосомами с помощью ИК-спектроскопии приведен только один пример спектра, полученного в ходе инкубации – рисунок 20. Не представлены экспериментальные спектры для различных липосом и их комплексов с белком. Третье: в ИК-спектрах не проанализированы изменения пиков  $\text{PO}_2$  и Амид II и нет информации по сигналам от характеристических фрагментов полярных головных групп фосфолипидов и пролекарств – это холиновая группа и фенильное кольцо мелфалана. Однако приведенные замечания не снижают общего высокого уровня, не влияют на общую научную и практическую значимость. Основные результаты опубликованы в 5 статьях. Таким образом, диссертация Третьяковой является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития биоорганической химии. А именно, показано, что введение липофильного пролекарства метотрексата в мембрану липосом стимулирует их захват моноцитами крови человека, и в связи с этим такие липосомы представляют интерес для терапии не только злокачественных заболеваний крови, но и для лечения ряда воспалительных заболеваний в патобиологии которых участвуют моноциты, например, таких как, артрит, воспалительные заболевания кишечника, хроническая обструктивная болезнь легких и различные формы гломерулонефрита. Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует всем требованиям положения о диссертациях и сам автор Третьякова Дарья Сергеевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 Биоорганическая химия. И подготовил отзыв Мелик-Нубаров Николай Сергеевич. Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры высокомолекулярных соединений Химфака МГУ и подписано зав. кафедрой, член-корр. РАН д.х.н. Ярославовым. Ну тут были замечания, может быть или сначала я про автореферат скажу?

**Иванов Вадим Тихонович:** Нет, давайте все-таки если замечания, есть ли необходимость и желание ответить на замечания, которые прозвучали? Прошу.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Да, конечно, про замечания, хотелось бы сказать про погрешности. Они указаны на рисунках, на которых их видно. Для некоторых исследований, где, например, очень небольшое общее значение по шкале Y, там сам разброс даже меньше чем маркер на графике, в среднем это от 5 до 8 %. Соответственно, вот здесь его не видно (*демонстрация графика на слайде*). Про ИК-спектр: кольцо мелфалана на спектре мы вообще не видели, оно дает слишком слабый сигнал, его за остальными пиками не видно и пик холиновой группы тоже очень маленький и совсем над фоном, поэтому его тоже сложно было

анализировать. Амид II дает относительно дублирующую информацию к Амид I, поэтому ориентировались по Амид I. И PO<sub>2</sub> – в нем сложнее проводить деконволюцию, а информация из него во многом перекликается с информацией получаемой для карбонильных групп. Кажется всё. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. А что у нас с отзывами на автореферат? Есть?

**Олейников Владимир Александрович:** Поступило три отзыва на автореферат, все отзывы положительные. В каждом из отзывов как-то отражаются основные результаты.

*(Зачитывает отзывы на автореферат).* В частности в первом: судя по автореферату, работа выполнена на очень высоком методологическом уровне, использован большой набор инструментальных методов, опубликованы результаты в 5 авторитетных, международных научных журналах, где автор является первым в списке соавторов. И соответственно все соответствует, и автор Третьякова Дарья Сергеевна заслуживает. Подписано – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. Ореховича, это подписала Торховская Татьяна Ивановна. Следующий отзыв, опять же, подчеркивается, несколько раз встречается слово – “впервые установлено”. Отзыв сугубо положительный, значит, результаты, полученные Третьяковой в процессе выполнения диссертации, имеют прямое отношение к нескольким областям знаний: от биохимии до биоорганической химии, коллоидной и физической химии и до различных разделов биомедицинских наук. Подписано - доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник Института синтетических полимерных материалов имени Н.С. Ениколопова Российской академии наук, это лаборатория функциональных полимерных структур, значит, Чвалун С.Н. И последний, третий отзыв тоже сугубо положительный, подписан кандидатом биологических наук, доцентом кафедры биохимии, биотехнологии, фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета Ибрагимовой М.Я. Без замечаний.

**Иванов Вадим Тихонович:** Замечаний нет, ни там, значит можем двигаться дальше и переходим к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. Итак, Михаил Александрович Маслов доктор химических наук, директор, я так понимаю, МИТХТ, это Институт тонких химических технологий, который оказывается сейчас вошел в состав Российского технологического университета МИРЭА.

**Маслов Михаил Александрович (официальный оппонент):** Уважаемый Вадим Тихонович, уважаемые коллеги! Хотелось бы поблагодарить за возможность ознакомиться с данной диссертацией. И собственно говоря постараюсь как можно более объемно, но в то же время коротко представить свои впечатления о диссертанте и о его работе. Наверно начну я с того что липосомы давно уже известны. В 90-х годах первые липосомальные препараты были уже внедрены в практику и используются в настоящее время, и с каждым годом количество липосомальных препаратов все увеличивается и увеличивается. На самом деле совсем недавно возникло новое направление фундаментальных исследований, которое, собственно говоря, отражает то как липосомы при введении в кровоток, при системном введении, взаимодействуют с компонентами крови и с клетками крови и как при этом изменяется их поведение. И тут оказалось, что есть достаточно огромное поле для фундаментальных практических исследований, поскольку иногда поведение липосом меняется драматическим образом. И если исследователи надеются на специфическое накопление в определенных органах и тканях именно на взаимодействие с компонентами крови и с клетками крови может

их предположение и их первоначальные гипотезы существенным образом изменить. Количество работ в этой области увеличивается из года в год и, грубо говоря, сейчас эти работы в престижных журналах публикуются и выходят и на самом деле уже такие работы относятся не только к липосомам, но и самим наночастицам. И на самом деле наверно данная работа важна не только для липосомальных препаратов и липосомальных препаратов с противоопухолевым действием, она важна для всех наночастиц, которые имеют биомедицинское применение, поскольку, на самом деле, всё, что сделано в данной диссертации, все что делается в данной области в мировой науке должно быть принято во внимание и, по-хорошему, прежде чем вводить в клинику такие препараты, такие исследования должны выполняться. Тем самым мне хотелось сформулировать, что данная работа является актуальной и вот она чрезвычайно интересна как для развития науки в нашей стране, так и вообще в мировом пространстве. Сама работа построена по классическому пути, есть все классические разделы: литературный обзор, материалы и методы, обсуждение результатов, выводы. Литературный обзор полностью соответствует теме диссертации, написан очень хорошим языком и, на самом деле, он подводит к тем методам и к тем результатам, которые автор выполнял в своей работе. То есть в нем описано какие уже исследования выполнены другими учёными, как может меняться поведение липосом при взаимодействии с компонентами крови, какие методы могут для этого использоваться. То есть автором проработан огромный материал, который ему помог выстраивать свою собственную логику научных исследований и помог очень сделать красивое обсуждение тех результатов, которые были получены. В разделе материалы и методы полностью описаны все эксперименты, которые были сделаны в данной диссертационной работе. Эксперименты описаны полностью. Выбор всех экспериментальных методик абсолютно адекватен и соответствует тем задачам, которые автор ставил в данной диссертационной работе. И если подойти к разделу обсуждения собственных результатов, то этот раздел можно разбить на 2 основные части, и первая часть была связана с изучением липосомальных препаратов метотрексата. Тут были найдены и получены интересные данные, которые касаются того, что оказывается, если ввести липофильное пролекарство метотрексата в липосомы, то он, сами липосомы с метотрексатом начинают селективно накапливаться в моноцитах крови и также оказалось, что такие липосомы могут специфическим образом активировать систему комплемента и вызывать инициацию иммунного ответа, что, собственно говоря, дает такой некий новый практический ход в применении этих липосом, которые, с одной стороны, сначала рассматриваются диссертантом только как противоопухолевые, а на самом деле, как делается потом в последствии вывод, что они могут рассматриваться как препараты более широкого спектра действия, например, как против артроза. Вторая часть работы была связана с изучением липофильного пролекарства мелфалана, который также встраивался в липосомы, и здесь, собственно говоря, работа была посвящена тому, что автором были выбраны различные экранирующие добавки: всего их было 3 объекта таких синтетических. Это фосфатидилинозитол, синтезированный специальный липопептид, а также ганглиозид липофильный тоже и, собственно говоря, исследовалось то, каким образом введение этих дополнительных добавок влияет на взаимодействие с компонентами крови, и как это влияет на взаимодействие с альбумином. Что можно сказать, что послужило наверно поводом к использованию данных добавок. Во-первых, главный повод - это то, что эти добавки являются альтернативой пегилированию, то есть тем стандартным ПЭГ-молекулам, которые сейчас широко используются в различных препаратах не только липосомальных, но и белковых препаратов для того, чтобы увеличить время циркуляции объекта в кровяном русле.

Но мы знаем, что пегилирование вызывает такой очень нехороший эффект – к нему вырабатывается иммунная реакция, и на второе-третье введение такого препарата просто-напросто эффективность лечения резко снижается. Поэтому найти альтернативу пегилированию – это тоже очень важная задача с той точки зрения, что это позволит применять другие альтернативные методы конструирования липосомальных препаратов и любых других наночастиц. Изучая то, как различные добавки влияют на взаимодействие липосом с компонентами крови, были также найдены очень интересные фундаментальные знания, которые позволяют развивать в дальнейшем всю фундаментальную область, связанную с созданием новых липосом. Например, в качестве примера хочется привести то, что было найдено, что если ввести в состав липосом ганглиозид либо липопептид, то стабильность липосом в сыворотке крови очень сильно изменяется, они становятся более стабильными. В то же время, параллельно автором были выполнены исследования о том все-таки, как же введение ПЭГа влияет на стабильность липосом при взаимодействии с компонентами крови, и здесь тоже была очень интересная находка: принято считать, что достаточно 10% пегилированного липофильного соединения в липосомах и тогда липосомы становятся стабильными, а можно иногда и меньше добавлять липофильного ПЭГа. Но тут оказалось, что если его добавить 10%, то липосомы наоборот разрушаются, высвобождают пролекарство из своего состава, а для того, чтобы они не разрушались надо брать на самом деле 30%, и только в этом случае липосомы начинают выполнять свою функцию, не разрушаются, то есть остаются стабильными в крови. Опять же это очень важно с практической точки зрения и, собственно говоря, если подвести итог всем исследованиям, то в принципе тот набор различных инструментов, который автор использовал, различных добавок экранирующих, которые были введены в состав липосом, он показывает то, что при формировании любой наноразмерной системы доставки на самом деле не важно, какой она будет, липосомальной или полимерной, нужно смотреть отдельно на влияние каждого компонента, поскольку каждый компонент может драматически изменить поведение молекулы в живой системе: в крови, при взаимодействии с клетками крови и так далее. К работе после ознакомления были сделаны несколько замечаний, если позволите, их так немного, воспользуюсь и прочитаю. Значит первое замечание было связано с тем, что когда формируются липосомальные препараты с липофильными производными мелфалана и метотрексата, дальнейшие исследования проводятся, и устанавливается влияние, скажем так, изменение липосомального бислоя при воздействии белковых молекул. Вот интересно было бы узнать как располагаются остатки мелфалана и метотрексата в мембране относительно поверхности мембраны в случае липосом, когда они сформированы из фосфатидилхолина и каким образом может изменяться конформация и расположение метотрексата и мелфалана, если в эти липосомы вводятся как раз экранирующие добавки. Второе, вопрос был связан с тем, что автором был найден тот факт, что моноциты очень хорошо захватывают липосомы с метотрексатом. и это способствует лучшему поглощению – наличие метотрексата в липосомах – моноцитами. И хотелось бы прояснить, меняется ли кинетика взаимодействия липосом с моноцитами, если в эксперимент добавить свободный метотрексат, который должен выступить как некий конкурентный ингибитор этого взаимодействия, то есть посмотреть, насколько здесь эта добавка будет влиять на кинетику взаимодействия. Дальше при изучении взаимодействий липосом с альбуминов автор делает предположение, что наличие липофильного мелфалана и фосфатидилинозитола делает поверхность липосом более гладкой и равномерной, объемистая отрицательно заряженная группа фосфатидилинозита скомпенсирована небольшим положительно заряженным остатком

мелфалана. Здесь собственно говоря возникает такой вопрос, и тот и другой компонент берется в 10% приблизительно соотношениях, а главным компонентом липосом является фосфатидилинозитол, который тоже имеет свои полярные группы. Вот интересно было бы узнать, каким образом фосфатидилинозитол взаимодействует с мелфаланом, извиняюсь, фосфатидилхолин, взаимодействует с мелфаланом и с фосфатидилинозитолом в рамках такого взаимодействия. И последнее было замечание. Оно такого дискуссионного характера. Автор говорит, что введение молекул пролекарства мелфалана создает локальные дефекты поверхности, но не расшифровывает, что такое в данном случае составляет понятие дефекты, потому что к этому понятию можно приписать очень много различных размышлений. Значит, если продвигаться дальше к заключению, то мне хотелось бы отметить, что все замечания скорее носят дискуссионный характер, и наверно это такие пожелания на какие-то дальнейшие исследования, которые конечно не должны останавливаться в данном направлении, а проводиться дальше. Сама работа является очень интересной, комплексной, в этой работе присутствует и химический синтез, различные биологические исследования, изучение структуры с помощью различных физико-химических методов. Все результаты, которые получены в этой работе, опубликованы в зарубежных и российских журналах. Также работа неоднократно докладывалась на различных, опять же, международных и российских конференциях. Автореферат полностью соответствует названию и содержанию диссертации, и соответственно те результаты, которые получены, они полностью достоверны, абсолютно не вызывают никакого сомнения и являются очень хорошими и важными результатами для того, чтобы развивать дальнейшие исследования в данном направлении. И в заключение я наверно читаю важный абзац из отзыва о том, что диссертационная работа Третьяковой Дарьи Сергеевны представляет собой законченное исследование, которое по актуальности, теоретической и практической значимости, новизне экспериментального материала и достоверности сделанных выводов отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, согласно пунктам 9-14 согласно "Положения о присуждении ученых степеней", и является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих важное значение для создания новых противоопухолевых препаратов липосомального ряда, имеющих улучшенные характеристики, и развития направления наномедицины в Российской Федерации. Автор работы Третьякова Дарья Сергеевна несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 Биоорганическая химия. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, Михаил Александрович! Я так понимаю, что диссертант может ответить на вопросы.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Да.

**Иванов Вадим Тихонович:** Она хотела бы ответить.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Первый вопрос касался того как возможно ориентированы остатки мелфалана и метотрексата в бислое и как изменяется их ориентация при введении ещё дополнительных компонентов в бислое. Прямых данных у нас на самом деле нет, если смотреть на структуру то, мы считаем, что по ацильным цепям они полностью соответствуют остальным компонентам бислоя, и мелфалановое пролекарство, там остаток самого лекарства меньше чем полярная часть липидов, поэтому он, возможно, будет притоплен в мембране относительно её поверхности. Остаток метотрексата наоборот, он сам больше по геометрии плюс он ещё при синтезе содержит линкер к ацильной части, поэтому, он, по-видимому,

будет над бислоем как-то немного выступать. При добавлении каких-либо ещё липидов к фосфатидилхолину с пролекарствами, как изменяется положение этих остатков – здесь косвенно я могу предположить, что из-за того, что сильно увеличивается связывание СЗ на липосомах с ганглиозидом и с пептидолипидом, возможно, положение метотрексата, у которого есть здесь  $\text{COO}^-$  и здесь две аминокислотные группы (*показывает на слайде*), которые в литературе сообщаются выгодными для связывания СЗ, то есть увеличение связывания СЗ при добавлении какого-либо компонента в мембрану возможно, как я предполагаю, изменяет положение этого остатка так, чтобы больше этих групп стало доступно для связывания. Второй вопрос про конкурентное ингибирование метотрексатом липосом с пролекарством метотрексата. Такие эксперименты в данной работе мы не проводили, но из ранних данных в лаборатории с этими же липосомами с метотрексатом на других клетках, это были клетки иммортализованной Т-клеточной лимфомы, пытались проводить конкурентное ингибирование низкомолекулярным метотрексатом липосом, и там нужны очень большие концентрации низкомолекулярного метотрексата, на порядок – на два больше. Скажем так, поливалентное взаимодействие с метотрексатом, представленным на поверхности липосом, как-то оказывается выгоднее для взаимодействия с клетками, чем поиск и захват отдельных низкомолекулярных молекул метотрексата. Далее про дефекты: как мы понимаем, и как это было написано в работе, это скорее изменение бислоя при введении в него дополнительного какого-то компонента, например, того же мелфалана, потому что его введение меняет состояние, текучесть бислоя, то есть его упорядоченность. Поэтому мы называли как раз дефектом именно вот эти изменения в  $\text{CH}_2$  области и, возможно, также геометрию. И ещё вопрос – почему мы рассматриваем взаимодействия пролекарства мелфалана с фосфатидилинозитом, но исключаем из нашего рассмотрения фосфатидилхолин, который там основной компонент и его 80%. В принципе, посмотреть напрямую, что происходит, например, с фосфатидилхолином, с его полярной группой у нас не получилось, потому что тут очень маленький пик (*обсуждение ИК-спектра на слайде*), и мы оценивали все взаимодействия только по  $\text{CH}_2$  и  $\text{C=O}$ . Из их сигналов можно сделать вывод, что например для карбонильных групп добавление фосфатидилинозита или мелфалана влияет на гидратацию одинаково, и так как нет прямых сигналов из полярных групп липидов, опять же по косвенным данным, мы считали, что так как они 1 к 1 – фосфатидилинозит с пролекарством мелфалана, и что введение их обоих в бислой возвращает колебания  $\text{CH}_2$ -групп к исходным положениям, как были в бислое просто из яФХ, мы считаем, что они друг друга компенсируют. Спасибо за вопросы и за внимание.

**Иванов Вадим Тихонович:** Значит, Михаил Александрович, если Вы не согласны и хотите подискутировать у нас ещё будет общая дискуссия, поэтому будет такая возможность. Пока я предлагаю двигаться дальше. Второй оппонент Ольга Сергеевна Остроумова не смогла прибыть, я так понимаю, из Питера. Правильно, да?

**Олейников Владимир Александрович:** Да, совершенно верно.

**Иванов Вадим Тихонович:** Владимир Александрович, надо тогда Вам зачитать.

**Олейников Владимир Александрович:** Да. Отзыв поступил, поступил вовремя от второго оппонента, отзыв тоже полностью положительный.

(*Зачитывает отзыв оппонента Остроумовой О.С.*)

Опять же начинается традиционно с актуальности и важности, что применение супрамолекулярных носителей для лекарственных препаратов является одним из подходов к

увеличению таргетности и уменьшению токсичности их воздействия. Диссертация Третьяковой классическая: 146 страниц машинописного текста, классическая структура, 270 наименований ссылок. Глава “Обзор литературы” состоит из 4 подразделов и, важно, что пишет оппонент, сделано таким образом, чтобы читатель смог понять логику исследования и дальнейшего изложения материала, а также все методологические и методические аспекты работы. Глава “Материалы и методы” – 2 подраздела, следует отметить, что в работе используется богатый набор методических подходов. “Результаты и их обсуждение” состоит из двух частей, как уже было в предыдущем отзыве подчеркнуто. Первая часть посвящена липосомам с липофильным пролекарством метотрексат, вторая часть главы “Результаты и обсуждение” посвящена изучению липидных везикул, содержащих липофильное пролекарство мелфалан – химиотерапевтический агент с другим механизмом цитотоксического действия, а также взаимодействию нагруженных пролекарством липосом с компонентами плазмы крови. Глава “Заключение” и “Выводы” резюмируют все полученные результаты. И вот важным является раздел – в порядке дискуссии хотелось бы задать автору следующие вопросы: первое, в обзоре литературы описываются различные компоненты белковой короны наночастиц, в том числе, липосом, проводились ли в работе исследования связывания с липосомами белков, отличных от компонентов системы комплемента? Второе, хотелось бы уточнить у автора работы причины, по которым не было проведено исследования взаимодействия липосом с пролекарством метотрексата с сывороточным альбумином. Третье, в диссертации не упоминается, проводились ли параллельно исследования связывания компонентов системы комплемента с липосомами, нагруженными пролекарством мелфалана. Во введении автор ссылается на ранее опубликованные данные о различиях в связывании ряда функционально важных белков плазмы крови, в том числе компонентов системы комплемента с липосомами, содержащими метотрексат и мелфалан. Однако сравнительные исследования взаимодействий различных препаратов с белками плазмы следует проводить на одних и тех же образцах плазмы. Четвертое, проводились ли исследования *in vivo* влияния липосом, включающих мелфалан, на гемопоэз? Известно, что основным побочным эффектом при лечении мелфаланом является угнетение системы кроветворения, клеток костного мозга. Пятое, использовались ли автором какие-либо методы количественного анализа данных, полученных иммуноблоттингом? К незначительным упущениям также относятся погрешности представления иллюстративного материала, в частности, не на всех рисунках, относящихся к иммуноблоттингу, отмечены молекулярные массы и названия белков. На рисунке 5А смещены подписи, на рисунке 8, где приведены гистограммы FACS-анализа, не указано, какая популяция клеток обозначена символом Н, на рисунке 10 у некоторых колонок нет доверительных интервалов, в подписи к рисунку 13 отсутствует концентрация фосфатидилинозита. Не вполне удачными кажутся некоторые словосочетания, достаточно часто используемые автором в тексте диссертации и автореферата, в частности, «противоопухолевые липосомы» - что следовало бы заменить на везикулы, включающие противоопухолевые препараты, «жидкость» - в некоторых случаях имеет смысл использовать термин «текучесть», «уширение каналов воды» и «микротрещины в мембране» - следовало бы говорить о транзиентных гидрофильных порах. Работа практически не содержит опечаток. В целом, диссертация Третьяковой Дарьи Сергеевны представляет собой квалифицированную, хорошо продуманную и фундаментальную работу. Полученные результаты являются оригинальными, а вытекающие из них выводы логичными и значимыми. Автореферат полностью отражает суть диссертационной работы. Перечисленные выше замечания не умаляют значимости

полученных результатов и сделанных на их основе выводов. В связи с этим считаю, что диссертационная работа Третьяковой Дарьи Сергеевны соответствует критериям и всем требованиям, том числе п. 9, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно Положению о присуждении ученых степеней, сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия. Остроумова Ольга Сергеевна доктор биологических наук по специальности 03.01.03 Молекулярная биология, доцент по специальности Молекулярная биология, заместитель директора по научной работе, зав. лабораторией моделирования мембран и ионных каналов это Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук.

**Иванов Вадим Тихонович:** Дарья Сергеевна, защищайтесь.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Спасибо за прочтение отзыва, я согласна с замечаниями оппонента про лексику и про вопросы, которые также фигурируют в отзыве. Проводили ли мы исследования белков короны, отличных от белков системы комплемента – мы наблюдали во-первых, сорбцию альбумина, на наших липосомах его видно при окрашивании геля после электрофореза серебром. С помощью метода иммуноблоттинга наблюдали незначительное количество аполипопротеина AI и фибронектина. Например, аполипропротеин E в значительной степени в значительной степени у нас концентрируется на наших липосомах. К вопросу сразу о количественном анализе иммуноблота – нет, количественный анализ данных мы не проводили, мы их сравнивали для себя внутри по дорожкам и с интенсивностью дорожки блота исходной плазмы, которая была разведена и наносилась в качестве положительного контроля, вот она вот здесь (*описание иммуноблота на слайде*). Для мелфалановых липосом, с пролекарством мелфалана, мы тоже проводили эксперименты по связыванию белков системы комплемента на тех же пулах плазмы в то же время и наблюдали совсем незначительное связывание C3 и довольно хорошее концентрирование ингибиторов естественных – фактора H и C4b-связывающего белка. В диссертацию и презентацию это не вошло, поскольку отчасти дублирует ранее полученные данные другим методом. Также про эксперименты *in vivo* на липосомах с мелфаланом. На здоровых крысах проводили исследование гемопоэза. Липосомы с пролекарством мелфалана угнетают гемопоэз при более высоких дозировках, если сравнивать с коммерчески доступным препаратом низкомолекулярным мелфаланом - препаратом Алкеран. Вроде всё. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Мы заслушали все подготовленные отзывы, обсудили их, остается провести общую дискуссию. Кто хотел бы выступить? Николай Владимирович, прошу.

**Бовин Николай Владимирович:** Когда мы обсуждаем действие липосом на опухоли, лечение с помощью липосом, мы осознаем, что главным моментом в этом является специфичность – направленность доставки этих липосом к опухолевым клеткам. Если этого не будет, то и липосомы, на самом деле, не очень то нужны. А вот эта специфичность связывания липосомы с опухолевыми клетками имеет две стороны: это собственно специфичность связывания, и для этого липосомы снабжаются соответствующими молекулами, векторами, якорями, как угодно можно называть, а вторая сторона – это уменьшение неспецифического взаимодействия. А неспецифическое взаимодействие, естественно, должно быть, то есть мы ожидаем, что оно будет очень велико, потому что соотношение в организме, мы же говорим про эффект *in vivo*, соотношение между опухолевыми клетками и всеми остальными оно сильно-сильно сдвинуто в сторону



здоровых. Поэтому этот Stealth-эффект, защита липосом от взаимодействия с посторонними клетками и белками крови, должен быть чрезвычайно высокий, иначе все усилия по снабжению липосомы специфическим вектором, они просто убиваются, об этом можно забыть. И лаборатория липидов занимается и специфической стороной, надо сказать, успешно занимается, но сегодня речь не об этом. Сегодня речь о второй стороне – о Stealth-эффектах, и я должен подчеркнуть здесь, что результат очень хороший, результат очень перспективный, и это именно тот случай, когда мы не формально произносим слова о том, что возможен практический эффект, а вот этот тот самый практический эффект, который надо взять из рук исследователя и транслировать в практику, в медицину прямо сегодня и сейчас. И я желаю, чтобы это исследование действительно нашло выход в практику как можно быстрее. Я верю, что мы с вами живем в ноосфере, и что каждое слово, произнесенное нами, оно кем-то услышано. Я надеюсь, что мои слова о том, что это должно быть взято как можно быстрее жесткими руками и внесено в медицинскую практику кем-то ответственным за это будет услышано. Да, конечно я призываю всех голосовать за то, что это хорошая работа и абсолютно соответствует тому, что заявлено в соответствующих требованиях по кандидатам наук.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Есть ещё желающие поделиться соображениями. Я не вижу. На этом мы завершаем дискуссию. А Дарья Сергеевна может своё заключительное слово молвить.

**Третьякова Дарья Сергеевна:** Спасибо большое сегодняшнему диссертационному совету, оппоненту Михаилу Александровичу, который приехал на защиту, всем тем людям, которые на протяжении 5 лет моей работы над диссертацией мне помогали, обучали различным методам и работе в лаборатории. И отдельное спасибо я конечно же хотела сказать Елене Львовне, моему руководителю, за очень мою теплую характеристику. А также хочу поблагодарить коллективы лабораторий химии липидов, углеводов и лабораторию оксипинолов, которые на протяжении подготовки диссертации несколько раз собирались, слушали мои доклады, анализировали мои выступления и помогали советом о том, как лучше представлять свои результаты. Спасибо большое.

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну что же у нас счетная комиссия избрана. Можно было бы объявить перерыв на голосование. Я к тому и клоню. Хочется по традиции подготовить себя к голосованию по проекту заключения. Я прямо спрашиваю, Николай Владимирович, есть какие-то замечания? Всё-таки есть, давайте.

**Бовин Николай Владимирович:** Часть этого заключения, которая расположена на 5 странице, и начинается “дисс. совет отмечает что...”. Практически вся вторая половина этого абзаца посвящена литературному обзору по пегилированию, это надо категорически сокращать. Элементы литературного обзора не должны быть в заключении диссертационного совета. Об этом сказать нужно, но должны быть какие-то пропорции разумные. И второе, следующий раздел, теоретическая значимость работы. Во-первых, тут есть чисто литературное “механизмы различий”, мне кажется это неправильное сочетание слов. И вообще, вот эту теоретическую часть я бы советовал переписать, действительно отобразив теоретическую часть, а не просто перечисляя то, что было сделано. Вот это традиционно, так как это и фактически в любом документе этого плана, я вижу, что теоретическая часть пишется не так, как хотелось бы читать и видеть именно теоретическую часть, а не формально перечислять какие-то сделанные вещи. И традиционно я готов помочь переформулировать.

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну да, я предлагаю традиционную уже формулировку сейчас принять. Елена Львовна, предлагаю взять под контроль контакт Николая Владимировича и диссертанта и поучаствовать в формулировке, редакции и приведении к окончательному варианту, которому мы доверяем.

**Водовозова Елена Львовна:** Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну что ж, я предлагаю так. Сейчас мы объявляем перерыв на голосование. Я предлагаю не расходиться и надеюсь, что у нас счетная комиссия сработает быстро, аккуратно и продуктивно, поэтому нет смысла уходить далеко и возвращаться через какое-то время. Объявляю перерыв на голосование.

*(Перерыв, проводится тайное голосование)*

**Иванов Вадим Тихонович:** У меня такое ощущение, что подсчёт окончен и сейчас мы услышим что получилось.

**Олейников Владимир Александрович:** Счетная комиссия отработала. Значит вот результаты у меня перед глазами подсчетов. Теперь, Третьякова Дарья Сергеевна. Значит, присутствовало - 21, роздано бюллетеней – 21, оказалось в урне – 21, за – 20, против – нет, недействительный – 1.

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну что же. Тем не менее налицо отличная защита. Давайте перед тем как поздравлять проверим есть ли возражения против утверждения проекта заключений по поводу работы. Нет возражений? Нет. Поздравляем диссертантов с успешной защитой.

Председатель  
диссертационного совета



*(Handwritten signature of V.T. Ivanov)*

д.х.н., академик РАН Иванов В.Т.

Учёный секретарь  
диссертационного совета

*(Handwritten signature of V.A. Oleynikov)*

д.ф.-м.н. Олейников В.А.