

Заключение диссертационного совета МГУ.015.9

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «18» февраля 2025г. № 2

О присуждении Первушину Николаю Викторовичу, гражданину Российской Федерации,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления» по специальностям 1.5.22 Клеточная биология, 1.5.4 Биохимия принята к защите диссертационным советом МГУ.015.9 10.01.2025 г., протокол № 1.

Соискатель Первушин Николай Викторович, 1997 года рождения, в 2020 году окончил специалитет факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова) и получил диплом с отличием по специальности 33.05.01 «Фармация» (квалификация «Провизор»).

В период подготовки диссертации Первушин Николай Викторович обучался в очной аспирантуре факультета фундаментальной медицины на кафедре биохимии и регенеративной биомедицины по направлению 06.06.01 «Биологические науки» с 01.10.2020 г. по 30.09.2024 г.

Соискатель работает в лаборатории исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова в должности научного сотрудника факультета с июня 2023 года по настоящее время.

Документы, подтверждающие сдачу кандидатских экзаменов, выданы в 2024 году ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диссертация выполнена в лаборатории исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель - доктор биологических наук Копейна Гелина Сергеевна, ведущий научный сотрудник лаборатории исследования механизмов апоптоза факультета

фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Филимонова Марина Владимировна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией радиационной фармакологии Медицинского радиологического научного центра имени А. Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Якубовская Марианна Геннадиевна – доктор медицинских наук, заведующий отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Татарский Виктор Вячеславович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной онкобиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался компетентностью в соответствующей отрасли наук и наличием публикаций в соответствующей сфере исследования.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 11 работ, из них все 11 статей опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям и отрасли наук (в скобках приведен объем публикации в условных печатных листах и вклад автора в условных печатных листах):

1. Bazanov D.R. 2,4,5-Tris(alkoxyaryl)imidazoline derivatives as potent scaffold for novel p53-MDM2 interaction inhibitors: Design, synthesis, and biological evaluation / Bazanov D.R., **Pervushin N.V.**, Savitskaya V.Y., Anikina L.V., Proskurnina M.V., Lozinskaya N.A., Kopeina G.S. // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. – 2019. – Vol. 29, № 16. – P. 2364–2368. WoS (JIF, JCI) = 2.5, 0.75 (0.58;0.19)

2. **Pervushin N.V.** Mcl-1 as a “barrier” in cancer treatment: Can we target it now? / Pervushin N.V., Senichkin V.V., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. // International Review of Cell and Molecular Biology. – 2020. – Vol. 351. – P. 23–55. Scopus (IF, SJR) = 6.8, 2.0 (3.81;3.24)

3. Сеничкин В.В. Таргетирование белков семейства Bcl-2: что, где, когда? / Сеничкин В.В., **Первушин Н.В.**, Зуев А.П., Животовский Б., Копейна Г.С. // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 10. – С. 1421–1441. WoS (JIF, JCI) = 2.3, 0.36 (2.43;0.61)

4. **Первушин Н.В.** Деградация Mcl-1 в условиях недостатка питательных веществ происходит независимо от аутофагии / Первушин Н.В., Сеничкин В.В., Капуста А.А., Горбунова А.С., Каминский В.О., Животовский Б., Копейна Г.С. // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 10. – С. 1452–1463. WoS (JIF, JCI) = 2.3, 0.36 (1.39;0.51)

5. Bazanov D.R. Sulfonamide derivatives of cis-imidazolines as potent p53-MDM2/MDMX protein-protein interaction inhibitors / Bazanov D.R., **Первушин Н.В.**, Savin E.V., Tsymliakov M.D., Maksutova A.I., Sosonyuk S.E., Kopeina G.S., Lozinskaya N.A. // Medicinal Chemistry Research. – 2021. – Vol. 30, № 12. – P. 2216–2227. WoS (JIF, JCI) = 2.6, 0.6 (1.39;0.63)

6. Senichkin V.V. Bak and Bcl-xL Participate in Regulating Sensitivity of Solid Tumor Derived Cell Lines to Mcl-1 Inhibitors / Senichkin V.V., **Первушин Н.В.**, Zamaraev A.V., Sazonova E.V., Zuev A.P., Streletskaya A.Y., Prikazchikova T.A., Zatsepin T.S., Kovaleva O.V., Tchevkina E.M., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. // Cancers. – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 181. WoS (JIF, JCI) = 4.5, 0.91 (2.2;1.1)

7. Bazanov D.R. Synthetic Design and Biological Evaluation of New p53-MDM2 Interaction Inhibitors Based on Imidazoline Core / Bazanov D.R., **Первушин Н.В.**, Savin E.V., Tsymliakov M.D., Maksutova A.I., Savitskaya V.Yu., Sosonyuk S.E., Gracheva Y.A., Seliverstov M.Yu., Lozinskaya N.A., Kopeina G.S. // Pharmaceuticals. – 2022. – Vol. 15, № 4. – P. 444. WoS (JIF, JCI) = 4.3, 1.08 (2.08;1.07)

8. **Первушин Н.В.** Bcl-B: an “unknown” protein of the Bcl-2 family / **Первушин Н.В.**, Kopeina G.S., Zhivotovsky B. // Biology Direct. – 2023. – Vol. 18, № 1. – P. 69. WoS (JIF, JCI) = 5.7, 1.28 (0.81;0.73)

9. Sazonova E.V. Cancer Drug Resistance: Targeting Proliferation or Programmed Cell Death / Sazonova E.V., Yaprntseva M.A., **Первушин Н.В.**, Tsvetov R.I., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. // Cells. – 2024. – Vol. 13, № 5. – P. 388. WoS (JIF, JCI) = 5.1, 0.67 (1.85;0.48)

10. **Первушин Н.В.** BH3-mimetics or DNA-damaging agents in combination with RG7388 overcome p53 mutation-induced resistance to MDM2 inhibition / **Первушин Н.В.**, Nilov D.K., Pushkarev S.V., Shipunova V.O., Badlaeva A.S., Yaprntseva M.A., Kopytova D.V., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. // Apoptosis. – 2024. – Vol. 29, № 11-12. – P. 2197–2213. WoS (JIF, JCI) = 6.1, 0.85 (1.96;1.47)

11. **Первушин Н.В.** Cisplatin Resistance and Metabolism: Simplification of Complexity / **Первушин Н.В.**, Yaprntseva M.A., Panteleev M.A., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. // Cancers. – 2024. – Vol. 16, № 17. – P. 3082. WoS (JIF, JCI) = 4.5, 0.91 (1.5;0.75)

На диссертацию и автореферат поступило 4 дополнительных отзыва, все положительные.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований установлены механизмы развития приобретенной устойчивости опухолевых клеток к действию антагонистов Mcl-1 и MDM2, а также предложены способы преодоления данного типа устойчивости.

Изучаемые в рамках данного проекта препараты были разработаны несколько лет назад и сейчас активно исследуются на различных стадиях клинических испытаний. В ходе исследований установлено, что белок Bax является важным предикторным маркером, который определяет чувствительность опухолевых клеток к действию антагонистов Mcl-1. Были получены новые клеточные модели, характеризующиеся повышенной устойчивостью к действию антагонистов Mcl-1. В двух из них развитие резистентности к ингибированию Mcl-1 сопровождалось повышением уровней других антиапоптотических белков – Bcl-2 или Bcl-xL. Более того, совместное подавление Mcl-1 и Bcl-2 или Mcl-1 и Bcl-xL вело к преодолению устойчивости опухолевых клеток к действию антагонистов Mcl-1. Также было отмечено, что профиль экспрессии генов белков семейства Bcl-2 имеет важное прогностическое значение у пациентов с аденокарциномой легкого. В частности, наибольшая выживаемость наблюдалась у пациентов с пониженными уровнями Bcl-xL и Mcl-1 и повышенным уровнем Bax.

Впервые показан синергетический эффект при совместном применении антагонистов Mcl-1 и MDM2 в опухолевой модели нейробластомы. Кроме того, была получена новая клеточная модель нейробластомы, характеризующаяся повышенной устойчивостью к действию антагонистов MDM2. Различными методами *in vitro* и *in silico* было определено, что причина резистентности клеток к ингибированию MDM2 заключается в появлении мутаций в структуре p53. Выявлено, что химиопрепараты Цисплатин и Доксорубицин были менее эффективны в качестве индивидуальных соединений в клетках нейробластомы с приобретенной устойчивостью к RG7388 в *in vitro* и *in vivo* моделях. Однако Цисплатин или S63845 в комбинации с антагонистом MDM2 вели к частичному преодолению устойчивости к действию последнего. Наконец, было продемонстрировано наличие биологической активности у новых ингибиторов MDM2, являющихся модификациями препарата Нутлин-3а и обладающих улучшенными физико-химическими свойствами.

Полученные данные о предикторных маркерах, определяющих чувствительность опухолевых клеток к ингибированию Mcl-1, а также *in vitro*, *in silico* и *in vivo* результаты,

касающиеся механизмов приобретенной устойчивости к действию антагонистов Mcl-1 и MDM2, могут внести существенный вклад в развитие современных подходов к лечению онкологических заболеваний. В частности, эти сведения позволяют оценить потенциальные преимущества и риски применения селективных ингибиторов Mcl-1 и MDM2. Кроме того, полученная информация может способствовать одобрению и рациональному использованию данных агентов в клинической практике в будущем. Прогностическое значение профиля экспрессии генов белков семейства Bcl-2 у пациентов с аденокарциномой легкого имеет большое значение в контексте развития подходов персонализированной медицины. Наличие биологической активности у новых производных Нутлина-3а, ингибиторов MDM2, обладающих повышенной растворимостью по сравнению с оригинальными соединениями из семейства нутлинов, значимо для усовершенствования стратегий получения водорастворимых лекарственных препаратов.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Белки Bax, Bcl-xL и Bcl-2 являются предикторными факторами, определяющими чувствительность опухолевых клеток к действию антагонистов Mcl-1.
2. Повышение уровней антиапоптотических белков Bcl-2 или Bcl-xL лежит в основе развития приобретенной устойчивости опухолевых клеток к действию антагониста Mcl-1 S63845, а использование антагонистов белков Bcl-2 или Bcl-xL при совместном применении с S63845 ведет к преодолению устойчивости опухолевых клеток к ингибированию Mcl-1.
3. Повышенный уровень белка Bax совместно с пониженными уровнями Bcl-xL и Mcl-1 определяют благоприятный прогноз выживаемости пациентов с аденокарциномой легкого.
4. Развитие приобретенной устойчивости опухолевых клеток к действию антагониста MDM2 RG7388 связано с изменением структуры белка p53 вследствие появления замены His193Arg, ведущей к нарушению взаимодействия ДНК и p53 и снижению транскрипционной активности последнего.
5. ДНК-повреждающие агенты Цисплатин и Доксорубин обладают меньшей эффективностью в качестве индивидуальных соединений в клетках нейробластомы с приобретенной устойчивостью к действию антагониста MDM2 RG7388 *in vitro* и *in vivo*, а антагонист Mcl-1 S63845 или Цисплатин в комбинации с RG7388 обеспечивают частичное преодоление устойчивости клеток нейробластомы к действию последнего.

6. Новые антагонисты MDM2, являющиеся производными соединения Нутлин-3а, обладают биологической активностью и улучшенными физико-химическими свойствами по сравнению с Нутлином-3а.

На заседании 18.02.2025 диссертационный совет принял решение присудить Первушину Николаю Викторовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология, 6 докторов наук по специальности 1.5.4 Биохимия, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета (дополнительно введены на разовую защиту 6 человек), проголосовали: за 20, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета д.б.н., профессор

Онищенко Г.Е.

Ученый секретарь

диссертационного совета к.б.н.

Липина Т.В.

«21» февраля 2025 года

Печать структурного подразделения МГУ