

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.005.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ТОКСИКОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ГОЛИКОВА  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА», ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК**

аттестационное дело N \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 22.12.2022 N 8\_\_\_\_\_

О присуждении Некрасовой Ксении Александровне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экспериментальное исследование рекомбинантного антитела, блокирующего активацию комплемента, при травматическом повреждении головного мозга» по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология принята к защите 18 октября 2022 года (протокол заседания №5) диссертационным советом 68.0.005.01, созданным на базе Федерального государственного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева д.1 (Приказ Рособнадзора от 10.09.2010 №2296-576, Приказ Министерства науки и высшего образования от 03.06.2021 №561/нк).

Соискатель Некрасова Ксения Александровна, 7 августа 1985 года рождения.

В 2007 году соискатель окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (диплом о высшем образовании

№ ВСА 0559021, присуждена квалификация провизор по специальности «фармация»), работает начальником отдела организации научно-исследовательских работ в Федеральном государственном унитарном предприятии «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства.

Диссертация выполнена на базе Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России).

Научный руководитель – кандидат биологических наук Ищенко Александр Митрофанович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория гибридных технологий, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

**Шабанов Петр Дмитриевич**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел нейрофармакологии им. академика С.В. Аничкова, заведующий отделом;

**Ленская Карина Владимировна**, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра фармакологии, и. о. заведующего кафедрой

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (г. Москва), в своем положительном отзыве, подписанном

**Зыряновым Сергеем Кенсариновичем**, доктором медицинских наук, профессором, кафедра общей и клинической фармакологии, заведующий кафедрой, **Бондаревой Ириной Борисовной**, доктором биологических наук, кафедра общей и клинической фармакологии, профессор кафедры, указала, что диссертационная работа Некрасовой Ксении Александровны «Экспериментальное исследование рекомбинантного антитела, блокирующего активацию комплемента, при травматическом повреждении головного мозга», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача: экспериментально обоснован подход к лечению травматического повреждения головного мозга, основанный на блокировании активации комплемента с помощью рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека. Диссертационная работа Некрасовой К.А. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достоин присуждения искомой степени по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликованы 4 работы, из них в рецензируемых научных изданиях опубликованы 3 работы, из которых 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. В работах представлены результаты экспериментального исследования рекомбинантного антитела, блокирующего активацию комплемента, при травматическом повреждении головного мозга. В диссертации отсутствуют достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Авторский вклад

соискателя состоял в непосредственном участии на всех этапах выполнения научных работ, включая получение исходных данных, обработку и интерпретацию полученных результатов, подготовку публикаций.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Некрасова, К.А.** Ингибирование функции анафилатоксинов комплемента при патологии центральной нервной системы /К.А. Некрасова, А.М. Ищенко, А.В. Трофимов // Медицинский академический журнал. – 2021. – Т.21. – №2. – С.37–52.

2. **Некрасова, К.А.** Доклинические исследования специфических видов токсичности кандидатного лекарственного средства на основе рекомбинантного гуманизированного антитела к неопредетерминанте С3 компонента комплемента человека для лечения травматических повреждений головного мозга /К.А. Некрасова, А.В. Трофимов, А.В. Жахов [и др.] // Биомедицина. – 2021. – Т.17. – №4. – С.68–80.

3. Горбунов, Н.П. Комплемент при патологиях, возможность коррекции с помощью нового гуманизированного антитела, блокирующего альтернативный путь /Н.П. Горбунов, А.В. Жахов, А.В. Трофимов, **К.А. Некрасова** [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13. – №2-2(22). – С.754–756.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации** — ведущая организация. Отзыв положительный, содержит вопросы:

1. Известно, что биотехнологические препараты на основе рекомбинантных антител являются достаточно дорогостоящими, предполагается ли в связи с этим, что подход к лечению травматического повреждения головного мозга, основанный на использовании изученного рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте С3

компонента комплемента человека, может быть использован в качестве основной терапии или только в тех случаях, когда повреждения в головном мозге ассоциированы с избыточной активацией системы комплемента?

2. Чем обусловлен выбор для проведения экспериментов *in vivo* в качестве модели закрытой черепно-мозговой травмы — модели свободно падающего груза, а, например, не модели контролируемого коркового повреждения, отличающейся лучшей воспроизводимостью результатов?

**Шабанов П.Д.** — официальный оппонент, доктор медицинских наук, профессор. Отзыв положительный, содержит замечания и вопросы:

1. Замечание 1 касается подачи материала. Работа большая, объемная, добротная, современная, но описание специфической активности (раздел 3.3, стр. 87–96) выглядит довольно скромно и включает лишь скрининговые методы оценки высшей нервной деятельности на небольшом числе крыс ( $n=39$ ): описание условной реакции пассивного избегания, которая выполняется в одной пробе за 3 мин, нанесение черепно-мозговой травмы падающим на голову грузом, оценка процента выживших и погибших животных (стр. 87–88, таб. 3.3.1). Правда, далее достаточно подробно описываются результаты морфологического исследования, подтверждающие нейропротекторную активность исследуемого препарата (стр. 88–96), что частично компенсирует недостаток описания поведенческих данных.

2. Замечание 2. В выводе 3 диссертации (стр. 138) автор констатирует, что «Аналог рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 — моноклональное антитело 3A8, специфичное С3 компоненту комплемента крысы — обладает фармакологической активностью в модели закрытой черепно-мозговой травмы...», что не совсем понятно, какая это фармакологическая активность — защитная (протекторная), ноотропная (мнемотропная), противоотечная или какая-либо ещё. Тем более, для пояснения активности используются такие расплывчатые характеристики, как «четкая тенденция к сохранению памятного следа у животных, перенесших ЗЧМТ» и прочее.

3. Вопрос: как автор видит потенциальное место предполагаемого препарата на основе моноклональных антител, специфичных С3 компоненту комплемента, в схеме лечения последствий черепно-мозговой травмы: это применение в острый или подострый период травмы? В отдаленный период травмы? Периодическое курсовое назначение после перенесенной травмы? Как часто и каким курсом? В виде монотерапии или в составе комплексной терапии? Как элемент базисной терапии, вспомогательной терапии, лечения отдельных проявлений? С чем комбинировать и для каких целей? Просьба пояснить более подробно.

4. По-видимому, стоимость таких препаратов, как гуманизированные антитела к С3 компоненту комплемента, будет немаленькая, смогут ли они конкурировать с уже существующими препаратами, такими как ноотропы (рацетамы, ноопепт, кортексин) и ноотропоподобные (мексидол, эмоксипин, метапрот) в лечении последствий травм мозга?

**Ленская Карина Владимировна** – официальный оппонент, доктор биологических наук, профессор. Отзыв положительный, содержит замечание и вопрос:

1. В обзоре научной литературы автором подробно рассматривается роль избыточной активации системы комплемента при патологических процессах в центральной нервной системе, ингибирование системы комплемента при ишемических инсультах и черепно-мозговой травме в исследованиях *in vivo*, а также приведен краткий обзор ингибиторов комплемента, находящихся в настоящее время в клинической разработке и потенциально эффективных при лечении патологий центральной нервной системы. При этом в обзоре не представлен анализ существующих подходов к фармакотерапии ЧМТ, их достоинств и недостатков, что не позволяет оценить предполагаемую роль разрабатываемого антитела, блокирующего активацию комплемента, в общей картине терапии ЧМТ.

2. Специфическая фармакологическая активность рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 *in vivo* изучалась на примере его аналога –

моноклонального антитела 3A8, специфичного С3 компоненту комплемента крысы. Сравнивалась ли эпитопная специфичность этого антитела со специфичностью рекомбинантного антитела hC34?

Отзывы на автореферат:

**Беляев Н.Н.** — доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

**Козлов А.П.** — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной биологии Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства. Отзыв положительный, содержит вопросы:

1. Известен ли участок связывания для моноклонального антитела 3A8 с компонентом С3 или его формами?
2. Можно ли его считать полным аналогом рекомбинантного гуманизированного антитела hC34?

**Колобов А.А.** — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем их компетентности, известными научными исследованиями, публикационной активностью по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, наличием в ведущей организации

ученых, известных своими исследованиями по теме защищаемой диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** методика количественной оценки ингибирующего действия рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека, основанная на определении уровней продуктов активации комплемента — анафилатоксинов C3a и C5a;

**предложен** новый подход к разработке средств экспериментальной терапии травматического повреждения головного мозга с помощью оригинального рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека;

**доказано**, что аналог рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 — моноклональное антитело 3A8, специфичное C3 компоненту комплемента крысы — проявляет церебропротекторную активность на модели закрытой черепно-мозговой травмы в эксперименте, что подтверждает перспективность его использования для разработки фармакологических средств экспериментальной терапии при травме головного мозга и профилактики осложнений, ассоциированных с избыточной активацией системы комплемента;

**введены** количественные критерии, позволяющие оценить специфическую активность рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 *in vitro*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

**доказано**, что рекомбинантное гуманизированное антитело hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека не блокирует классический путь активации комплемента, но блокирует альтернативный путь активации в молярном недостатке по отношению к общему количеству C3 в пробах плазмы крови;

применительно к проблематике диссертации результативно **использован** комплекс базовых фармакологических, токсикологических,



иммунологических, физиологических, морфологических методов исследования;

**изложены** доказательства того, что блокирование активации системы комплемента разработанным антителом обеспечивает проявление его церебропротекторной активности;

**раскрыты** положительные эффекты применения ингибитора комплемента при черепно-мозговой травме, которые реализуются только при блокировании одного из путей активации комплемента — альтернативного, при этом действующие классический и лектиновый пути способны выполнять свои функции защиты организма от инфекционных агентов, клиренса апоптотических клеток и другие;

**изучены** причинно-следственные связи между механизмом действия антитела, блокирующего активацию системы комплемента, и улучшением функционального состояния животных, а также снижением показателей воспаления в головном мозге при черепно-мозговой травме;

**проведена модернизация** существующего методического подхода к изучению механизма действия ингибитора системы комплемента *in vitro* с учетом специфики разработанного оригинального антитела.

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

**разработан и внедрен** метод оценки *in vitro* ингибирования рекомбинантным антителом hC34 продукции анафилатоксинов C3a и C5a. Разработанный метод включен в проект нормативной документации на препарат в составе методики контроля качества специфической активности фармацевтической субстанции и лекарственной формы рекомбинантного гуманизированного антитела hC34. Полученные результаты внедрены в научно-практическую деятельность ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России в целях повышения качества проводимых в институте доклинических исследований инновационных лекарственных препаратов на основе рекомбинантных белков (Акт внедрения от 09.12.2019);

**определены** перспективы использования изученного рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека для разработки фармакологических средств, характеризующихся церебропротекторной активностью и возможности исследования рекомбинантного антитела hC34 на модели ишемического инсульта;

**создано** перспективное средство экспериментальной терапии на основе оригинального рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 к неопредетерминанте C3 компонента комплемента человека, эффективное при травматическом повреждении головного мозга;

**представлены** рекомендации для проведения дальнейших исследований рекомбинантного антитела hC34 с целью подтверждения специфической фармакологической активности на релевантном виде животных (приматы) и последующих клинических испытаний.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном оборудовании при наличии достаточного объема экспериментального материала и использовании современных высокоинформативных методов исследования;

**идея базируется** на анализе научной литературы по проблеме ингибирования функции анафилатоксинов комплемента при травматическом повреждении головного мозга;

**использованы** сравнения авторских данных с данными, полученными ранее по рассматриваемой тематике;

**установлено** качественное совпадение отдельных результатов исследования с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** современные высокоинформативные методы исследования (фармакологические, иммунологические, физиологические, гистологические, токсикологические) в сочетании с адекватными методами статистической обработки данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения исследования, включая планирование экспериментов, получение исходных данных, обработку и интерпретацию результатов экспериментальных исследований, выполненных лично автором и при участии автора, подготовку публикаций. Соискатель являлся исполнителем научно-исследовательской работы ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России «Доклинические исследования лекарственного средства на основе рекомбинантного гуманизированного антитела к С3 компоненту комплемента человека для лечения травматического повреждения головного мозга» по Государственному контракту №14.N08.11.0121 от 30 сентября 2016 г. Доля личного участия соискателя в планировании исследований, проведении экспериментов *in vitro*, в статистической обработке и интерпретации результатов экспериментальных данных, подготовке публикаций составила не менее 90 %.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Профессором Ивницким Ю.Ю. и профессором Александровым М.В. о недостаточной обоснованности оценки специфической фармакологической активности исследуемого рекомбинантного антитела, блокирующего активацию комплемента, по критерию сохранности условного рефлекса пассивного избегания у животных после формирования черепно-мозговой травмы.
2. Профессором Саватеевой-Любимовой Т.Н. о недостаточном представлении соискателем обоснования величин вводимых доз и объема исследуемого препарата при оценке острой токсичности.

Соискатель Некрасова Ксения Александровна согласилась с высказанными замечаниями, ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию об эффективности и перспективах использования рекомбинантного антитела, блокирующего активацию комплемента, при травматическом повреждении головного мозга.

На заседании 22.12.2022 г. диссертационный совет принял решение:  
за решение научной задачи по экспериментальному обоснованию применения рекомбинантного антитела hC34, блокирующего активацию комплемента, при травматическом повреждении головного мозга, имеющей важное значение для развития фармакологии, клинической фармакологии, присудить Некрасовой К. А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 7 докторов наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19, против 1, недействительных бюллетеней 1.

Председатель  
диссертационного совета



Баринов Владимир Александрович

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Луковникова Любовь Владимировна