

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора медицинских наук Абакушиной Елены Вячеславовны
на диссертацию Сусловой Ирины Рудольфовны «Изучение механизмов
противоопухолевого действия производного 4-аминохромена (*in vivo* и *in vitro* исследование)», представленную в диссертационный совет Д 208.001.11
на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности
14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность избранной темы.

Актуальность темы исследования обусловлена ростом числа онкологических больных в мире. Несмотря на то, что химиотерапевтические методы лечения чрезвычайно широко используются в онкологии, недостаточная их безопасность диктует необходимость поиска новых фармакологических средств, позволяющих обеспечить высокую эффективность и хорошую переносимость при курсовом введении. Фармакологическое лечение рака легкого имеет ряд сдерживающих факторов, ведущим среди которых является трудность создания высоких действующих концентраций препарата в легочной ткани, даже при введении в высоких дозах.

В последние годы в связи с успехами в области молекулярной фармакологии, генетики и иммунологии были выявлены разнообразные молекулярные механизмы, отвечающие за процесс развития опухолевой ткани, и, следовательно, определяющие прогноз заболевания. Так, идентифицирован ряд внутриклеточных сигнальных путей, которые могут играть определяющую роль в лечении рака легких. Фармакотерапевтические подходы, базирующиеся на направленном воздействии на ключевые сигнальные внутри- или внеклеточные мишени при развитии опухоли, определяют сущность современной персонализированной терапии. Подобные химиотерапевтические протоколы воздействуют на конкретные биологические мишени и существенно увеличивают продолжительность жизни больных, особенно у тех, которым не показано хирургическое лечение.

Одним из перспективных классов веществ с небольшой прямой цитотоксической активностью, селективно подавляющих синтез структурного онкогена в опухолевых клетках, является класс природных кумариновых соединений – аминокхроменов, у которых описаны уникальные фармакологические свойства. В исследованиях на культурах опухолевых клеток, а также на животных, была показана перспективность использования производных аминокхромена – соединений для химиотерапии ряда злокачественных новообразований эпителиального и соединительнотканного генеза. При этом, указанной группе веществ присущ приемлемый профиль безопасности. Однако детального изучения механизма противоопухолевого действия, а также фармакокинетики одного из наиболее эффективных соединений группы замещенных 2-аминокхроменов не проводилось. В этой связи диссертационное исследование И.Р. Суловой представляется своевременным и актуальным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Диссертантом на основе самостоятельно выдвинутой гипотезы и разработанного дизайна исследования проделана большая экспериментальная работа, которая включала постановку опытов *in vivo* и *in vitro*. В своей работе автор достаточно корректно использует современные, апробированные и международно-признанные методы исследования. Во первых, для изучения фармакологического действия соединений – были использованы экспериментальные методы формирования ксенографтной модели человеческой опухоли у гуманизированных животных в качестве носителя, для количественного определения биологических маркеров в образцах опухоли иммуноферментный анализ, иммуногистохимический метод для определения потенциала программируемой гибели опухолевых клеток, культуральные методы для изучения динамики полимеризации тубулина под действием АХ-554, а также методы фармакокинетики. Во-вторых, часть работы проведена на линейных лабораторных животных – мышах BALB/cnu/nu – и клеточных культурах из банка опухолевых штаммов. В-третьих, в исследовании было использовано современное лабораторное оборудование. В-четвертых, для подтверждения теоретических

положений диссертант использовал адекватные методы вариационной статистики с применением параметрических и непараметрических критериев, методов прогнозирования, сравнения и оценки продолжительности жизни животных, а также лицензионное программное обеспечение.

Поставленная в диссертации цель была достигнута, а задачи – решены. Выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы. Они объективны, вытекают из результатов собственного исследования, достоверны и подтверждены статистическим анализом.

Научная новизна и теоретическая значимость диссертационной работы Ирины Рудольфовны Суловой вытекают из совокупности полученных оригинальных научных результатов о механизме противоопухолевого действия впервые синтезированного соединения – 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбо-нитрила N-ацетил-аминоэтаната. Установлено, что в основе противоопухолевого эффекта в отношении ксенографтной человеческой аденокарциномы легкого лежат следующие ключевые механизмы: ингибирование деления опухолевых клеток, активация аутофагии, индукция программируемой гибели клеток опухоли. Ирина Рудольфовна впервые показала, что курсовое внутрижелудочное введение АХ-554 приводит к снижению содержания структурного онкогена – тубулина-бета 3 в клетках опухоли, кроме того, инкубация тубулина мономера с исследуемым веществом в культуре клеток сопровождается снижением скорости полимеризации тубулина. Производное аминокромена активирует апоптоз за счет повышения экспрессии каспазы-3 и снижения экспрессии Bcl-2. Активация аутофагии, по данным диссертанта является следствием снижения экспрессии рецепторной тирозинкиназы ALK.

Особую научную ценность представляют результаты изучения сигнального пути мезенхимального трансформирующего фактора в опухолевой ткани, позволившие показать низкий потенциал формирования фармакорезистентности изученного молекулярного варианта рака легкого в отношении соединения замещенного 2-аминохромена АХ-554.

Диссертант показала, что при внутрижелудочном введении соединение обладает оптимальной биодоступностью, позволяющей формировать в

легочной ткани терапевтическую концентрацию действующего вещества, необходимую для реализации его противоопухолевого эффекта.

Таким образом, в диссертационной работе Сусловой И.Р. представлен ряд положений, определяющих новизну исследования. Достоверность результатов выполненных исследований вполне убедительна и основывается на принципах научной доказательности.

Практическая значимость исследования

Описанные Сусловой И.Р. научные результаты имеют большую практическую значимость. Они заключаются в поиске нового перспективного вещества, природного соединения алкил-замещенного 2-аминохромена, обладающего противоопухолевой активностью, также определены ключевые механизмы его действия. Автором разработана биологическая платформа для проведения фармакологических исследований потенциальных противоопухолевых лекарственных средств, представляющая собой ксенографтную человеческую опухоль на гуманизированном носителе-мелком грызуне. В рамках экспериментального изучения системной и тканевой кинетики распределения соединения при внутривенном и внутрижелудочном введении впервые разработана аналитическая методика определения субстанции АХ-554 в биологических жидкостях и тканях. Полученные результаты о механизме действия АХ-554, его фармакокинетики и биодоступности могут быть использованы при проведении дальнейших доклинических исследований и планировании клинических испытаний кандидата в лекарственное средство.

Общая характеристика работы.

Диссертация построена по традиционному плану, структура работы включает введение, литературный обзор, описание материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, изложенных в трех главах. Общий объем работы составляет 128 страниц компьютерного текста, диссертация иллюстрирована двадцатью тремя рисунками и одиннадцатью таблицами, содержит приложение.

Во введении И.Р. Сулова формулирует актуальность, новизну и практическую значимость работы, цель и задачи исследования, ключевые положения, выносимые на защиту.

Глава 1, включает обзор 232 литературных источников, из которых 225 – зарубежных авторов. Она посвящена изложению современных взглядов на противоопухолевую активность веществ природного происхождения, в том числе и кумаринов – природных источников соединений 2-аминохромона. Обзор изложен достаточно подробно, хорошим литературным языком, читается легко, интересно.

Во второй главе автор детально описывает исследуемое химическое вещество, дает подробную характеристику объекту исследования – ксенографтной опухолевой ткани, животным опухоленосителям и участвующим в проведении фармакокинетического фрагмента работы. Обращает особое внимание подробная проработка диссертантом вопросов дозирования исследуемого вещества и референтных препаратов, а также методологических аспектов постановки экспериментов *in vivo* и *in vitro*.

Третья глава посвящена изучению противоопухолевого действия АХ-554 на разработанной ксенографтной модели человеческой аденокарциномы легкого. Дизайн раздела выполнен в строгом соответствии с требованиями национального регулятора, в связи с чем достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

В четвертой главе диссертант обосновывает ключевые механизмы противоопухолевого действия соединения АХ-554, причем, использует для этого как эксперименты на клеточной линии в культуре, так и опыты на гуманизированных животных *in vivo*. Автор проводит сравнительное исследование АХ-554 при его внутрижелудочном введении в различных дозах от 5,8 до 104,3 мг/кг. Доказана линейность изменения основных фармакокинетических параметров в сыворотке крови и в легочной ткани.

В пятой главе заключении диссертационного исследования, автор описывает итоги выполнения исследования и обсуждает полученные результаты по изучению системной и тканевой кинетики АХ-554 на основе разработанной ею аналитической модели с применением известных и общепризнанных методов. Автор обобщает и систематизирует полученные данные в сравнительном аспекте с привлечением литературного материала.

Автореферат по структуре и содержанию полностью соответствует рукописи диссертации. Результаты работы широко обсуждались в рамках всероссийских научных мероприятий.

По теме работы И.Р. Сусллова опубликовала в соавторстве 12 научных работ: 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 3 статьи в журналах, индексируемых системами цитирования Scopus и Web of Science (квартили Q1, Q2). Также по теме диссертационного исследования получен 1 патент Российской Федерации на изобретение.

Замечания и вопросы. В целом работа оставляет благоприятное впечатление, она выполнена на современном методическом уровне, а имеющиеся отдельные недочеты и стилистические неточности носят скорее технический и несущественный характер.

Вместе с тем, для продолжения дискуссии, мне бы хотелось задать несколько вопросов:

1. Позволяют ли полученные Вами результаты утверждать, что соединение АХ-554 будет эффективно при других опухолях эпителиального происхождения?

2. Исходя из результатов проведенного фармакокинетического исследования, можно ли применять АХ-554 при парентеральных путях введения с сохранением его противоопухолевой эффективности?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Сусловой Ирины Рудольфовны на тему «Изучение механизмов противоопухолевого действия производного 4-аминохромона (*in vivo* и *in vitro* исследование)» является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение научной задачи – обоснование новых эффективных фармакологических подходов к лечению злокачественных новообразований легких путем поиска нового лекарственного вещества с противоопухолевой активностью, имеющей важное значение для фармакологии, клинической фармакологии.

По своей актуальности, новизне, практической и теоретической значимости, методическому уровню и объему выполненных исследований, работа полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский

Университет), утвержденного приказом ректора № 0094/Р от 31.01.2020 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Суслова И.Р., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (14.01.12, 14.03.09)



Елена Вячеславовна Абакушина

« 25 » 01 2021 г.

Подпись доктора медицинских наук Абакушиной Елены Вячеславовны
заверяю

Ученый секретарь
МРНЦ им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»
Минздрава России,
кандидат биологических наук
« 25 » 01 2021 г.



/Н.А. Печенина/

249031, Российская Федерация, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королёва, д. 4
Телефон: 8(484)-392-96-04
E-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru; abakushina@mail.ru