

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук Хромова Олександра Станіславовича на дисертаційну роботу Мешкової Наталії Олександрівни "Протипухлинна активність та механізми дії похідних хіназоліну (експериментальне дослідження)", що подана до спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність роботи.

На сучасному етапі проблема онкологічних захворювань особливо актуальна, що пов'язано не тільки з ростом кількості хворих на рак, але і з недостатньою ефективністю традиційних методів лікування. Необхідно відмітити, що хіміотерапія має ряд серйозних побічних ефектів, які обумовлені цитотоксичною дією препаратів. Прогрес у лікуванні пацієнтів з онкологічними захворюваннями може бути пов'язаний з істотними здобутками у галузі молекулярної біології, імунології, біотехнології, а також із розумінням причин виникнення пухлинного росту і закономірностей патогенезу злоякісного переродження. У зв'язку з цим нагальною є проблема пошуку нових високоспецифічних ("таргентних") препаратів та більш ефективних методів терапії даного захворювання.

Здатність до необмеженого автономного зростання є фундаментальною особливістю злоякісних пухлин. Ослаблення центральних механізмів регуляції і перехід до переважно ауто/паракрінних механізмів - один з найважливіших шляхів автономізації життєдіяльності пухлинної клітини. До числа місцевих регуляторів проліферації пухлинних клітин відносяться і фактори росту, які продукуються пухлинною клітиною або навколишньою їй стромою та взаємодіють з відповідним рецептором на мембрані самої клітини-продуцента або на мембрані сусідньої клітини.

Виходячи з викладеного, слід зробити висновок, що вибір здобувачем теми дисертаційної роботи виправданий. Можна не сумніватися, що і новизна пропонованого дослідження, і отримані результати можуть мати теоретичне значення та практичне застосування.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій, що сформульовані в дисертації.

Дисертаційна робота є частиною НДР, яка виконувалася у відділі онкофармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», а Мешкова Н.О. була безпосереднім виконавцем відповідних фрагментів.

Дисертаційна робота побудована традиційно та складається зі вступу, огляду літератури, опису методів і матеріалів дослідження, розділу, в якому викладені результати власних досліджень (підрозділи 3.1 – 3.6), аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків. Перелік використаних посилань містить 245 джерел (21 кирилицею, 224 латиницею). Дисертаційна робота написана українською мовою, викладена на 151 сторінці, містить 20 таблиць, ілюстрована 29 рисунками.

За допомогою наукового керівника була визначена тема, мета та об'єм роботи. Автор самостійно було сформульоване завдання, визначені напрямки і методичні підходи дослідження, проведений патентно-інформаційний пошук та робота з першоджерелами літератури. Н.О. Мешкова брала безпосередню участь у всіх експериментальних дослідженнях. Статистична обробка даних, їх науковий аналіз, оформлення дисертації були виконані здобувачем самостійно.

У вступній частині викладена актуальність проблеми, зв'язок даної роботи з іншими дослідженнями, новизна отриманих даних. Визначено об'єкт і предмет дослідження. Виходячи з поставленої мети, були складені завдання запланованого дослідження.

Огляд літератури, що представляє собою досить повний аналіз уявлень про суть проблеми та підходи до її вивчення, написаний грамотно, логічно. Автор докладно описує сучасне розуміння патогенезу та підходів до лікування пухлинної хвороби, обговорює проблеми, які виникають при проведенні таргетної терапії.

Розділ 2 "Матеріали та методи дослідження".

У цьому розділі автор обґрунтовує методологічні підходи до проведеного дослідження.

Описані фармакологічні, фізіологічні, біохімічні методи та прийоми комп'ютерного моделювання що були застосовані для вирішення поставлених завдань. У цілому, робота виконана на високому методичному рівні із залученням сучасних методів дослідження.

Розділ 3 "Пошук інгібіторів активності рецептора епідермального фактору росту серед похідних хіназоліну".

У першому підрозділі "Прогнозування цитостатичної та протипухлинної дії (віртуальне конструювання та докінг-аналіз) похідних хіназоліну" (п. 3.1) цієї глави обґрунтовується вибір бажаної мети фармакологічного впливу, тобто, тієї клітинної структури, яка відповідає за ріст пухлинних клітин. На думку автора, це - тирозинкінази рецептора ендотеліального фактора росту. Вибір "мішені" виправданий і тим, що вже існують речовини з подібним механізмом дії щодо яких встановлено їх клінічна ефективність. Виходячи з мети дослідження, на початковому етапі застосовано принципово правильний методичний прийом - віртуальне конструювання і докінг-аналіз імовірних нових структур. Такий підхід дозволив синтезувати 20 нових сполук, провести вивчення протипухлинної активності і показати механізм їх дії.

Базуючись на даних літератури про можливість трансактивації рецептора ендотеліального фактора росту за рахунок впливу на альфа-адренорецептори, автор вважав за доцільне вивчити і протипухлинну дію відомих альфа-адреноблокаторів, які є похідними хіназоліну.

Дані, які представлені в наступному підрозділі (п. 3.2) "Цитостатична дія похідних хіназоліну на лінії недрібноклітинного раку легень людини A549", дозволили автору підтвердити попередній прогноз: для низки досліджуваних речовин було виявлено присутність цитостатичної дії. Це відноситься як до вперше синтезованих речовин (сполуки 22030, 3105), так і до відомих лікарських засобів з адреноблокуючим механізмом дії (празозин та доксазозин). Виразність їх цитостатичної дії співставна з дією препарату порівняння (ерлотиніб).

Наступний підрозділ (п. 3.3) "Протипухлинна дія похідних хіназоліну на спектрі експериментальних пухлин (епідермоїдна карцинома легень Льюїса, карциносаркома Уокера, саркома 180, карцинома нирки РА)"

Використання чотирьох моделей пухлинного росту дозволило автору підтвердити протипухлинну активність сполуки 3105.

Відносно лікарських засобів з адреноблокуючим механізмом дії присутні в роботі відомості містять неоднозначну інформацію. Так, похідні хіназоліну і похідне сульфонамідів виявили виразну протипухлинну дію: карцинома Льюїса - теразозин, доксазозин, альфузозин і тамсулозин на 11 добу з подальшим стрімким зростанням обсягу пухлини (табл. 3.5); карциносаркома Уолкера - теразозин, доксазозин та тамсулозин на 9 добу (табл. 3.6); карцинома нирки - празозин на 10 добу (табл. 3.7); саркома 180 - дослідження не проводилися (табл. 3.8). Слід зазначити відсутність значущого впливу вищевказаних лікарських засобів на зміни маси експериментальних пухлин.

Наявність протипухлинної активності сполуки 3105 показано і в матеріалах наступного підрозділу (п. 3.4) "Протипухлинна дія похідних хіназоліну на ксенографтах

недрібноклітинного раку легені людини (підкапсульний тест)". У трьох серіях дослідів на пухлинному матеріалі, який був отриманий від пацієнтів з підтвердженим діагнозом, вказана сполука проявляла активність, яку можна порівняти з тестовим препаратом.

На наступному етапі (п. 3.5) "Вплив похідних хіназоліну на судинний тонус *in vitro* та артеріальний тиск щурів" дослідження на судинних препаратах грудної аорти, мезентеріальної артерії та воротної вени підтвердили релаксуючий вплив адреноблокуючих лікарських засобів. Розслаблююча дія ерлотинібу проявлялась лише в концентраціях на чотири порядки більших, ніж для відомих альфа-адреноблокаторів. У синтезованих сполук, що досліджувались, такої активності не було виявлено. У дослідях *in vivo* вірогідна зміна артеріального тиску спостерігалась тільки при введенні тамсулозину або ерлотинібу: зниження систолічного тиску на 17 і 13% відповідно, що не можна розцінювати як прояв гіпотензивної дії.

Результати визначення можливих механізмів дії досліджуваних речовин представлені в наступному підрозділі "Дослідження впливу похідних хіназоліну на ланки передачі мітогенних сигналів епідермального фактора росту та рецептора епідермального фактора росту" (п. 3.6).

Було вивчено вплив речовин на активність рецептора епідермального фактора росту. З цією метою оцінювались ключові шляхи формування і внутрішньоклітинної передачі мітогенного сигналу з рецептора ендотеліального фактора росту.

Автор показав виражену гальмівну дію сполуки 3105 на клітини культури недрібноклітинного раку легень, що стимульовані ЕРФ. Виразність цього ефекту була вища, ніж у ерлотинібу та значно перевищувала гальмуючий ефект теразозину.

Розділ 4 "Аналіз та обговорення одержаних результатів".

На жаль, цей розділ роботи вкрай лаконічний, що, ймовірно, обумовлено обговоренням отриманих даних у відповідних підрозділах дисертаційної роботи. Було б цікаво, обговорити можливості віртуального конструювання з точки зору збігу і відмінностей точок взаємодії з рецептором лігандів, які є похідними хіназоліну і піридину. Було б важливим, ґрунтуючись на власних даних про механізми дії та із залученням даних літератури, обговорити питання про конкретні механізми та селективність дії сполуки 3105.

Однак, навіть такий короткий аналіз, дозволяє Мешкової Н.О. у достатній мірі логічно трактувати отримані дані та обґрунтувати висновки, зроблені в дисертаційній роботі.

Наукова новизна роботи.

За результатами докінг-аналізу, деяких досліджень цитостатичної та протипухлинної дії відомих похідних хіназоліну, похідних інших хімічних груп показана можливість пошуку нових таргентних протипухлинних засобів серед α_1 -адреноблокаторів - похідних хіназоліну

Практичне значення роботи.

Серед нових похідних хіназоліну виявлена сполука, яка перевищує за цитостатичною та протипухлинною дією ерлотиніб та заслуговує на подальші доклінічні фармакологічні дослідження як перспективний таргентний протипухлинний засіб при недрібноклітинному раку легень.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях, авторефераті.

Наукові положення, що містяться в дисертації, є добре обґрунтованими та відповідають змісту роботи. Висновки ґрунтуються на результатах власних досліджень та

відповідають меті та завданням дослідження. Достовірність підтверджена статистичною обробкою. Новизна отриманих автором даних не викликає сумніву.

Результати, які представлені в дисертації, викладені у повному обсязі у 26 наукових роботах, в т.ч. 8 статей, з них 5 - у наукових фахових журналах та 1 зарубіжна, 2 патенти та 15 тез у матеріалах з'їздів, науково-практичних конференцій, у т.ч. з міжнародною участю. Якість і кількість публікацій відповідає вимогам ДАК МОН України.

Основні положення дисертації в повному обсязі відображені у авторефераті, який за змістом ідентичний дисертації.

Зауваження по дисертаційній роботі.

Дисертаційна робота у цілому справляє позитивне враження, але при рецензуванні роботи виникли деякі зауваження та запитання.

Наявність чіткого узагальнюючого висновку у огляді даних літератури, полегшило б сприйняття матеріалів дисертаційної роботи.

Всі відомості про використані речовини, шляхи введення та дози слід було б розмістити у розділі 2 "Матеріали та методи дослідження". У цьому ж розділі слід вказати і методи статистичного аналізу.

Не у всіх підрозділах роботи в повному обсязі наведені показники, які необхідні при проведенні статистичного аналізу.

Невдалими, на мій погляд, є ілюстративні матеріали, так як у більшості випадків вони не дозволяють оцінити достовірність змін, що спостерігались.

Перенесення основної частини обговорення результатів у відповідні розділи, з одного боку, дозволяє глибше зрозуміти описувані явища, з іншого - ускладнює сприйняття масштабу виконаної роботи в цілому.

У тексті дисертації зустрічаються технічні помилки, сленгові та просто невдалі вирази.

Найбільш проблематичними є судження про алфа-адреноблокуючу дію ерлотинібу і можливої протипухлинної активності теразозину.

Найбільший інтерес викликають відповіді на наступні запитання:

1. Які ще є похідні хіназоліну, які мають схожий з референтним препаратом механізм дії? Чи є відомості про наявність у цих речовин адренергічної дії?
2. Серед препаратів, які не є похідними хіназоліну, є інгібітори тирозинкінази рецепторів епідермального фактора росту (наприклад, сорафеніб). Що Вам відомо про адренергічну активність цих речовин?
3. Наскільки важливою є адренергічна активність в механізмі дії похідних хіназоліну, які володіють протипухлинною дією?

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Мешкової Н.О. "Протипухлинна активність та механізми дії похідних хіназоліну (експериментальне дослідження)" є самостійною науковою працею, при проведенні якої було отримано значний за обсягом експериментальний матеріал, що демонструє протипухлинну активність вперше синтезованої сполуки та розкриває механізми її дії.

Робота виконана на високому методичному рівні та має безперечну практичну значимість.

Висновки дисертації вагомі, логічні та впливають із суті роботи.

За актуальністю обраної теми, повнотою представлення, науковою новизною, практичною значимістю дисертаційна робота Мешкової Н.О. повністю відповідає п.11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а здобувач заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Г.н.с. відділу фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії
ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України",
д. мед. н.

О. Хромов

