

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Мешкової Наталії Олександрівни

за темою: «Протипухлинна активність та механізми дії похідних хіназоліну», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації

Рак легені є однією з найбільш важливих проблем онкології як в нашій країні, так і в світі: крім значної захворюваності, особливо у чоловіків, необхідно відзначити надзвичайно високий рівень смертності від цієї патології у осіб обох статей. При цьому основними питаннями в діагностиці та лікуванні раку легені, що наразі потребують вирішення, є своєчасна діагностика ранніх стадій пухлини та локалізованих пізніх стадій, виконання стандартів лікування і можливість їх проведення та вдосконалення існуючих схем лікарської терапії в тому числі і за допомогою пошуку нових ефективних препаратів. Особлива увага в даному напрямку приділяється препаратам нових поколінь із таргетною дією, зокрема і інгібіторам рецепторів фактору росту, зокрема EGFR. Даний трансмембранний протеїн часто є асоційованим з різними типами новоутворень епітеліального походження.

За останнє десятиліття серед препаратів-блокаторів активності EGFR в клінічну практику увійшли похідні хіназолінового ряду: гефітиніб, ерлотиніб, лапатиніб. Зважаючи на їх хімічну структуру увагу вчених привернув і ряд гіпотензивних препаратів - α_1 -адреноблокаторів з хіназоліновим кільцем. В ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» було синтезовано ряд нових похідних хіназоліну, дослідженню їх потенційної протипухлинної активності паралельно із їх вазодилататорними властивостями було присвячене дане дослідження. З огляду на важливість пошуку нових антинеопластичних

агентів та вивченню побічної дії вже існуючих препаратів, актуальність даної роботи є безперечною.

Дисертаційна робота виконана у відповідності до напрямків відділу онкофармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» в рамках НДР, № державної реєстрації 0112/V000824 (2012-2014 рр.). Дисертант є співвиконавцем даної теми.

Основні наукові положення, висновки і рекомендації, що сформульовані у дисертації, ступінь їх обґрунтованості і достовірності

Основні наукові положення та висновки, що сформульовані в дисертаційній роботі Мешкової Н.О. достатньо обґрунтовані та отримані із використанням сучасних методів досліджень (методу віртуального модулювання міжмолекулярних взаємодій, методів дослідження протипухлинної активності *in vitro* та *in vivo*, статистичних методів дослідження) із застосуванням відповідних комп'ютерних програм та обладнання.

У роботі використано достатню кількість лабораторних тварин для отримання достовірних результатів. Наведені в дисертаційній роботі теоретичні обґрунтування та експериментальні дослідження виконані коректно й на належному науковому рівні. Автором використана широка інформаційна база за темою дисертації, проаналізована велика кількість наукової та медичної літератури зарубіжних та вітчизняних дослідників.

Висновки дисертаційної роботи базуються на отриманих результатах поставлених завдань і логічно впливають із основної мети дослідження

Наукова новизна отриманих результатів

Наукова новизна дисертаційної роботи Мешкової Н.О. полягає у порівняльному дослідженні існуючих та новостворених сполук (синтезованих в ДУ «ІФТ НАМНУ») похідних хіназоліну, на предмет їх потенційної протипухлинної активності на злоякісно трансформовані клітини різного

гістогенезу (із широким спектром моделей *in vivo*). При цьому показано високу ефективність нових сполук щодо їх протипухлинної дії, що була порівняна із референтним (офіційним таргетним препаратом) ерлотинібом. Дисертантом встановлено, що ерлотиніб має гіпотензивну дію, тоді як відомі антигіпертензивні засоби хіназолінового ряду показали певну протипухлинну активність. Хоча дисертант не наголосив в науковій новизні на результатах, що були отримані «вперше в світі / Україні» чи «доповнено наукові дані щодо...»

Важливість для науки і практики отриманих автором результатів

Теоретичне значення дослідження полягає в доповненні сучасних відомостей про механізми дії сполук хіназолінового ряду та їх протипухлинних властивостей.

Практичне значення отриманих результатів полягає в експериментальному обґрунтуванні розширення показань застосування відомих антигіпертензивних препаратів хіназолінового ряду, як засобів для зниження артеріального тиску у онкологічних хворих. Крім того, за результатами дисертаційної роботи отримані нові дані щодо потенційної протипухлинної активності новостворених (синтезованих в ДУ «ІФТ НАМНУ») речовин, що може бути враховано про подальших доклінічних дослідженнях.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах

Основні положення дисертації знайшли повне відображення в 8 друкованих працях. Із них: 5 статей у наукових виданнях, відповідних переліку наукових видань України, у яких відображено зміст роботи та отримані результати, 1 стаття опублікована у міжнародному науковому виданні. 3 статті – огляд літератури. Отриманий деклараційний патент України на корисну модель, 1 патент на винахід, 15 праць опубліковані у матеріалах конференцій та з'їздів.

Обсяг друкованих робіт та їх кількість відповідають вимогам МОН України щодо публікації основного змісту дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Обсяг і структура дисертації

Дисертація викладена на 151 сторінці машинописного тексту, містить вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 8 підрозділів, присвячених експериментальним дослідженням, аналіз та обговорення одержаних результатів, висновки та список використаних джерел.

Аналіз змісту дисертації

Вступ дисертаційної роботи включає відомості щодо актуальності, мети та задач роботи, наукової новизни і практичної значимості, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, її структури та обсягу. При цьому наукова новизна описана не відповідно до загально прийнятих наразі вимог (без деталізації «вперше в світі / в Україні, доповнено наукові дані...»), що ускладнює розуміння новизни отриманих дисертантом результатів). Огляд літератури (перший розділ) викладений на 22 сторінках, присвячений аналізу та узагальненню сучасних літературних даних з питань структури, функції та механізмів дії EGFR, препаратів, що пригнічують його активність. Даний розділ не структурований, для покращення сприйняття матеріалу є необхідність виділення декількох підрозділів.

У другому розділі викладені дані щодо об'єктів та методів дослідження, а саме, здобувач використовував методи молекулярного докінгу, культивування пухлинних клітин, оцінки цитотоксичності сполук *in vitro* за допомогою МТТ-тесту (більш адекватне його застосування в якості тесту на метаболічну активність клітин та їх проліферативні характеристики, а для оцінки цитотоксичності сполук необхідне застосування методів фарбування, що виявляють живі і мертві клітини та дають змогу враховувати їх кількість),

трансплантації експериментальних пухлин тваринам, підкапсульного тесту, імунофлуорисцентного аналізу, дослідження впливу речовин на скорочення ізольованих судин щура, дослідження на антигіпертензивну активність. При цьому не винесено окремо в підрозділ статистичні методи дослідження.

У третьому розділі наведені результати дослідження нових та вже відомих похідних хіназоліну *in silico* (на модельних тирозинкіназах EGFR), *in vitro* (на клітинній лінії недрібноклітинного раку легені людини A549) та *in vivo* (на штаммах трансплантованих пухлин, що зазвичай використовуються при доклінічних дослідженнях протипухлинних засобів: саркомі 180, карциномі легені Льюїс, карциносаркомі Уокера, раку нирки РА та гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легені людини), на основі яких було обрано найбільш потенційно ефективні сполуки. В кінці деяких розділів власних досліджень автор наводить опубліковані статті, що розкривають суть дисертаційної роботи, але в деяких розділах такі данні відсутні. Відсутні також окремо виділені висновки після кожного розділу власних досліджень.

В заключенні дисертаційної роботи автор наводить “Аналіз та обговорення отриманих результатів”, який проведений на основі виконаної роботи. Загальні висновки по дисертації відповідають її змісту, конкретно і стисло висвітлюють основні наукові результати. Дисертація добре проілюстрована та чітко викладені усі положення, які базуються на сучасних методах аналізу.

Суттєвих зауважень до роботи немає, але у ході її аналізу виникло декілька побажань та запитань дискусійного характеру.

Зауваження по роботі загалом:

Структура та зміст автореферату ідентичні тим, що наведені в дисертації. Хоча в авторефераті викладено не всі експериментальні моделі (трансплантовані штами пухлин), що є в дисертаційному матеріалі. Висновки дисертації логічні, завершені і відповідають поставленим задачам та результатам дисертаційного дослідження. Загалом робота стосується

надзвичайно актуального напрямку, результати якого мають як фундаментальне, так і практичне значення.

1. Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі зауваження та пропозиції: Робота викладена з певними граматичними помилками та не повністю дотримано вимоги щодо написання дисертаційних робіт (висновки та список публікацій в кінці кожного підрозділу власних результатів). В роботі зустрічається некоректне використання термінів («експресована активність» та ін..). У тексті дисертації зустрічаються окремі стилістичні та друкарські помилки, хоча вони не впливають на зміст і цінність результатів дослідження.

2. В дослідженнях на протипухлинну активність *in vivo* не всі препарати були протестовані на всіх зазначених пухлинних штаммах, що заважає чітко порівняти протипухлинну активність досліджуваних сполук В підрозділі 3.1. не зрозуміло яку роль виконував дисертант, оскільки написано, що «...віртуальне конструювання...проведено ...професором..ПШБ...та к.х.н..ПШБ...». Крім того в даному розділі наведено декілька сторінок оглядової інформації, що доцільно було б перенести в огляд літератури та в розділ «Аналіз та обговорення одержаних результатів».

3. В розділі 3.2. необхідно більш чітко сформулювати різницю «цитостатичної» та «цитотоксичної» дії препаратів із використанням адекватних методів дослідження (фарбування та врахування результатів). Та обґрунтувати один чи обидва ефекти досліджених препаратів на культурі клітин.

4. У розділі 3.3 не зазначено, в яких дозах були застосовані досліджувані сполуки на саркомі 180. Крім того не зрозуміла суттєва різниця числових значень між контрольними групами в одному досліді.

5. У розділі 3.4. із результатами застосування підкапсульного тесту для дослідження похідних хіназоліну на ксенографтах недрібноклітинного раку легені людини не зрозуміло скільки паралелей вивчали при терапії тварин,

оскільки статистичний аналіз та певні висновки можуть бути зроблені при декількох повторях для достовірності результатів.

6. У розділі 3.6 «Дослідження впливу похідних хіназоліну на ланки передачі мітогенних сигналів епідермального фактора росту та рецептора епідермального фактора росту» не вказані умови експозиції досліджуваних сполук на клітини лінії A549 та кількість поставлених повторів *in vitro* і рекомендовано оцінювати та представляти результати не по даним «оптичної густини у лунках», а в інших значеннях - % та / чи ін..

Загалом позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Мешкової Наталії Олександрівни, хотілось би в плані дискусії отримати відповідь дисертанта на такі запитання:

1. У розділі 3.2 «Цитостатична дія похідних хіназоліну на лінії недрібноклітинного раку легені людини A549» було зазначено, що при розчиненні лікарської форми Альфузозину утворювався гель, застосування якого для досліджень *in vitro* було неможливим. Чому не було протестовано чисту хімічну субстанцію даної сполуки?

2. Чи пов'язана протипухлинна дія досліджених відомих гіпотензивних препаратів з α_1 -адреноблокуючою дією, якій присвячений цілий розділ досліджень у даній роботі?

3. Чим можна аргументувати / обґрунтувати наявність α_1 -адреноблокуючої дії у нових сполук, синтезованих в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»?

Висновки

Дисертаційна робота Мешкової Наталії Олександрівни «Протипухлинна активність та механізми дії нових похідних хіназоліну», представлена на здобуття ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія, є закінченою науковою працею, виконаною за актуальною тематикою. Мета роботи відповідає темі, поставлені завдання виконані, що

дозволило автору отримати якісні результати досліджень, які зумовили наукову новизну та практичну цінність роботи. Висновки відображають поставлені задачі та результати власних досліджень. Зміст автореферату ідентичний основним положенням дисертації.

Дана робота за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, використанням сучасних методів і підходів експериментальних фармакологічних дослідженнях, за обсягом проведених досліджень повністю відповідає сучасним вимогам до кандидатських дисертацій згідно «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» щодо кандидатських дисертацій, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 року зі змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук наук зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія

Офіційний опонент

старший науковий співробітник лабораторії
 модельних систем експериментальної онкології
 Інституту експериментальної патології,
 онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
 НАН України,
 кандидат біологічних наук



Н.О. Безденежних



Н.О. Безденежних

Р.Є. Кавецького

Н.О.