

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, доцента, старшего научного сотрудника группы природных канцерогенов отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенезе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России Лесовой Екатерины Андреевны на диссертационную работу Латышевой Александры Степановны на тему «Исследование противоопухолевой активности оксазолиновых производных андрост-16-ена и 21-норпрегн-17(20)-ена», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – биохимия

Актуальность темы

Несмотря на значительный прогресс в лечении онкологических заболеваний, достигнутый благодаря увеличению чувствительности диагностических процедур и совершенствованию хирургических и лекарственных методов лечения, смертность онкологических больных не снижается. Главной причиной такого состояния на данный момент недостаточный арсенал лекарственных средств в онкологии, в том числе препаратов для проведения таргетной терапии. Именно поэтому разработка новых классов противоопухолевых соединений и исследование молекулярных механизмов их действия на злокачественные клетки - весьма актуальная задача экспериментальной онкологии. Направленная разработка новых классов соединений невозможна без детального понимания молекулярных механизмов взаимодействия известных химических агентов с клетками. В настоящее время одним из направлений разработки таргетных препаратов для химиотерапии усовершенствование структуры известных и протестированных лекарственных средств с помощью методов молекулярного докинга. Известно, что антагонисты андрогенового рецептора и ингибиторы CYP17A1 являются одним из основных компонентов терапии рака предстательной железы. Однако более

половины пациентов с раком предстательной железы характеризуется развитием резистентности к андроген-депривационной терапии – переход заболевания в стадию кастрационно-резистентного рака предстательной железы.

Разработка препаратов для таргетной терапии кастрационно-резистентного рака предстательной железы была начата еще в XX веке. Так, для двух азотосодержащих стероидных препаратов, абираптерона и галетерона, была продемонстрирована противоопухолевая активность по отношению к данной нозологии. Частично были изучены молекулярные механизмы действия данных препаратов, и была показана мультитаргетность их действия.

В связи с этим, поиск antagonистов андрогенового рецептора, способных вызывать гибель резистентных клонов клеток рака предстательной железы, лежащий в основе диссертационной работы Латышевой А.С. является актуальной задачей современной биохимии, молекулярной биологии и онкологии, представляющей как теоретический научный интерес, так и имеющей практическое значение.

Содержание и завершенность работы

Диссертационная работа Латышевой А.С. выполнена на высоком профессиональном уровне, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Работа оформлена в традиционной форме: состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 119 страницах, содержит 53 иллюстрации, 3 таблиц и ссылки на 157 отечественных и зарубежных источника литературы.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, четко формулирует цель и задачи исследования, а также отражает научную новизну и практическую значимость работы.

Обзор литературы посвящен изложению современных представлений о структуре, свойствах и биологической активности андрогенового рецептора (AR), он дает представление о влиянии AR на сигнальные пути, нарушения в которых способствуют злокачественной трансформации клетки и свидетельствует о хорошем знании автором современной научной литературы. Также автор описывает известные азотсодержащие стероидные соединения, основные подходы к их получению.

Глава «Материалы и методы» написана подробно, что свидетельствует о высоком методическом уровне диссертации.

Глава «Результаты» включает 4 раздела. Первый раздел посвящен скринингу цитотоксической активности 38 новых азотсодержащих стероидных производных андростана и pregnана, выстраивание корреляции между структурой и активностью, выявление взаимосвязей, выявление наиболее активных молекул. Во втором разделе описано исследование молекулярных механизмов действия наиболее активных соединений, в частности, ингибированию изоформы цитохрома P450 CYP17A1. Третий раздел посвящен более детальному изучению цитотоксического и проапоптотического эффекта наиболее активных производных андростана *in vitro*. В четвертом разделе рассмотрено противоопухолевое действие наиболее активного производного *in vivo* на модели ксенографтов у бестимусных мышей, изучена его биодоступность. Показано превышение биодоступности абиаратерона новосинтезированным соединением при пероральном введении, показано статистически значимое снижение размеров опухоли при применении наиболее активного соединения 190. Несомненным достоинством работы Латышевой А.С. является тщательность в проведении экспериментов и обработке результатов. При обсуждении результатов был продемонстрирован широкий кругозор автора и его способность сопоставить собственные данные с результатами других исследователей. Выводы диссертации отражают полученные результаты выполненного исследования и адекватны

поставленным задачам. Автореферат по содержанию полностью соответствует тексту диссертации.

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

Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне, с применением современных молекулярно-биологических методов. Текст диссертации написан языком, легким для понимания биологами и медиками различных специализаций, результаты работы представлены в логичной форме. Объем исследований является достаточным для формулирования и обоснования представленных выводов.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность результатов работы базируется на корректном использовании современных молекулярно-биологических методов лабораторных исследований. Достоверность результатов исследования опирается на грамотно проведенную статистическую обработку и подтверждается их сопоставлением с имеющимися в литературе данными. Методическая база соответствует поставленным цели и задачам исследования. Объем проведенной экспериментальной работы достаточночен для получения достоверных данных.

В представленной диссертационной работе автором впервые проведен анализ противоопухолевой активности *in vitro* и *in vivo* новых азотсодержащих стероидных производных андростана и прегнана, изучен механизм действия новых соединений данного класса, исследовано содержание наиболее активной изучаемой молекулы в плазме крови при пероральном введении в сравнении

абиратороном. В целом, данные, полученные автором, являются новыми научными знаниями в онкологии.

Результаты исследования изложены в 21 научной работе, из которых 10 статей опубликованы в журналах, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки России. Основные положения диссертации были доложены на научных конференциях в России и за рубежом.

При общей высокой оценке к работе также есть ряд замечаний, которые носят рекомендательный характер и не снижают научной ценности представленной работы:

1. В подрисуночной подписи к рисунку 3 автор расшифровывает цветовую кодировку подписей стероидных гормонов: «Ферменты, катализирующие реакции биосинтеза стероидов (см. список сокращений) обозначены красным, названия основных глюокортикоидов – синим, минералокортикоидов – зеленым, эстрогенов – фиолетовым, андрогенов – темно-серым». Однако зеленым выделены глюокортикоиды, синим – минералокортикоиды, что может ввести читателя в заблуждение. Рекомендовано скорректировать рисунок 3.

2. Необходимо отметить ряд стилистических неточностей, орфографических и пунктуационных ошибок. Рекомендовано провести общую правку работы.

3. В литературном обзоре описана реализация механизма действия андрогенового рецептора посредством образования димера. Описано ли действие AR в виде мономера, как оно реализуется и какие процессы регулирует?

4. В задачи, поставленные в работе, не входило проведение синтеза, выделения, очистки и характеристики исследуемых молекул. С какой целью детальное описание методик синтеза приведено в разделе «Материалы и методы»?

5. В разделе «Материалы и методы», подраздел 3.8 «Статистическая обработка данных» не приведены тесты для оценки нормальности и гомогенности исследуемых выборок, и дальнейший алгоритм статистической обработки данных и представления описательных статистик. Также в данной работе в ряде случаев предполагается сравнение более чем двух выборок, однако не описано применение поправки на множественные сравнения. Рекомендовано проводить расчет статистических параметров с учетом нормальности и гомогенности выборки, а также множественных сравнений.

6. В таблице 1 приведены значения цитотоксического эффекта (IC50) 38 новосинтезированных соединений. Однако, для более наглядного представления, рекомендовано приводить графики дозовой зависимости цитотоксического эффекта новых азотосодержащих производных стероидных молекул выборочно для наиболее активных соединений в тексте диссертации или для всех исследуемых соединений в виде приложения.

7. Понятие «рост и пролиферация» является не вполне корректным, поскольку данные слова в описанной ситуации являются синонимами, а само выражение – тавтологией. Рекомендовано провести стилистическую и смысловую правку работы.

8. В большей части рисунков не хватает подрисуночных подписей – краткого описания процесса, иллюстрированного рисунком, и методической части. Рекомендовано дополнить рисунки подрисуночными подписями.

9. В исследовании фармакокинетики автор приводит метод расчета биодоступности в виде ссылки на литературу. Поскольку данное исследование показывает принципиальное достоинство исследуемой молекулы по сравнению с препаратом сравнения, рекомендовано вкратце изложить метод расчета данного параметра, исходя из данных хроматографического анализа.

10. Рекомендовано в качестве приложений привести протоколы заседаний биоэтической комиссии, заверенные в установленном организацией-учредителем порядке.

11. Эксперимент *in vivo* по определению противовопухолевых эффектов наиболее активного соединения на модели ксеногraftов клеток рака предстательной железы у бестимусных мышей продолжали до достижения опухолью в контрольной группе размера порядка 800 мм². Однако по нормам гуманного обращения с лабораторными животными допустимым является размер опухоли не более 1000 мм². В связи с чем эксперимент был закончен до достижения опухолями в контрольной группе? Вопрос вызван отсутствием статистически значимой разницы между группами контроля и исследуемого соединения в дозу 150 мг/кг на 3 сутки после окончания терапии и предположением, что при более долгом наблюдении эту разницу возможно детектировать. Либо в тексте работы желательно обсудить результаты, полученные на 10 сутки после окончания терапии, и сделать вывод о нецелесообразности наблюдения за ростом опухоли в течение периода более 3 суток после окончания терапии. Рекомендовано внести соответствующие комментарии в текст работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Латышевой Александры Степановны «Исследование противоопухолевой активности оксазолиновых производных андрост-16-ена и 21-норпрегн-17(20)-ена» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, которая вносит значительный вклад в развитие биохимии, молекулярной биологии и фундаментальной онкологии: оценена противоопухолевая активность новых азосодержащих стероидных соединений *in vitro* и *in vivo* на моделях рака предстательной железы, изучен молекулярный механизм их действия, а также оценена биодоступность наиболее активного соединения *in vivo*. Диссертация соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений

Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 20.03.2021 № 426; от 11.09.2021 № 1539; от 26.09.2022 № 1690; от 26.10.2023 № 1786; от 25.01.2024 № 62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – биохимия.

Официальный оппонент,
доктор биологических наук, доцент,
старший научный сотрудник
группы природных канцерогенов отдела химического канцерогенеза
НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России
Лесовая Екатерина Андреевна
Адрес: г. Москва, Каширское ш., д. 24, 115522
Телефон: +7(910)471-41-28
Email: lesovenok@yandex.ru

Подпись Лесовой Е.А. заверяю

Кандидат медицинских наук,
ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России
Кубасова Ирина Юрьевна
Адрес: г. Москва, Каширское ш., д. 24, 115522
Телефон: +7(499)324-15-20
E-mail: i.kubasova@ronc.ru

«25» апреля 2024 г.

