

## О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Коржовой Ксении Витальевны «Противоопухолевая, противовоспалительная активность и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина и их комбинаций с доксорубицином», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология.

### Актуальность

Диссертационная работа Коржовой Ксении Витальевны «Противоопухолевая, противовоспалительная активность и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина и их комбинаций с доксорубицином», посвящена актуальной задаче поиска новых малотоксичных средств с иммуотропным и противовоспалительным механизмом действия для адъювантной химиотерапии раковых заболеваний. Несмотря на достижения современной химиотерапии злокачественных новообразований, проблема повышения эффективности лечения опухолей остается крайне важной. Для усиления эффективности традиционных методов (цитостатической и лучевой химиотерапии) и таргетных препаратов в связи их высокой токсичностью идет расширенный поиск новых подходов лечения раковых заболеваний. В настоящее время доказана ключевая роль воспаления в онкогенном процессе, хроническое воспаление и его медиаторы усиливают течение онкогенеза, влияя на опухолевые клетки и клетки из микроокружения опухолей. Провоспалительные цитокины усиливают экспрессию и активацию вовлеченных в хроническое воспаление и опухолевой процесс сигнальных молекул, способствуя инициации канцерогенеза, усиливая пролиферацию и миграцию опухолевых клеток, воздействуя на рост первичной опухоли и метастатических узлов. Известно, что провоспалительный интерлейкин 6 (IL-6) является связующим звеном сигнального пути JAK/STAT3 между воспалением и стимуляцией пролиферации раковых клеток и метастазирования многих видов рака. Члены семейства цитокинов IL-6 активируют множество сигнальных путей, среди которых JAK/STAT3 признан главным онкогенным фактором и ключевым звеном, связывающим воспаление и рак. Уровень IL-6 в сыворотке крови онкобольных коррелирует с прогрессированием заболевания, метастазированием и неблагоприятным прогнозом. Плейотропный интерлейкин 4 (IL-4) играет иммунопатологическую роль в канцерогенезе солидных опухолей через сигнальный путь JAK/STAT6. В микроокружении опухолей опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM) под влиянием IL-4 способствуют инвазии метастатических опухолевых клеток в кровеносное русло и стимуляции опухолевого ангиогенеза. Кроме того, IL-4 является медиатором дифференцировки Т-лимфоцитов по Th2-типу с последующим синтезом IgE и

развитием аллергических реакций. IL-4, IL-5 и IL-13 являются основными драйверами иммунопатологического ответа при T2-воспалении и стали потенциальными терапевтическими мишенями при IgE-зависимых аллергических заболеваниях.

Таким образом, тема диссертационной работы Коржовой Ксении Витальевны «Противоопухолевая, противовоспалительная активность и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина и их комбинаций с доксорубицином» является актуальной и перспективной для разработки новых патогенетически обоснованных способов лечения онкозаболеваний с использованием производных 5-оксипиримидина.

**Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором проведено исследование иммунофармакологических, противовоспалительных, противоопухолевых и антиметастатических свойств нового соединения СНК-578 и выявлена или подтверждена аналогичная активность в отношении соединения СНК-411.

На моделях реакции воспаления на конканавалин А и каррагенан впервые установлены выраженные противовоспалительные свойства СНК-578, сопоставимые с диклофенаком. В опытах на морских свинках альбиносах было впервые установлено подавление реакции анафилаксии на овальбумин под влиянием соединений СНК-411 и СНК-578. Выявлено, что СНК-578, в отличие от СНК-411, не стимулировало гуморальное звено иммунитета, в комбинации с доксорубицином значимо подавляло антителообразование у мышей самцов линий СВА и С57В1/6, снижало клеточность селезенки и тимуса у самцов мышей F<sub>1</sub> (СВАхС57В1/6).

Впервые были обнаружены выраженные противоопухолевые свойства СНК-578 и СНК-411 на модели рака шейки матки РШМ-5: СНК-578 тормозило рост массы опухоли на 86,5%. Введение СНК-411 подавляло уровни проонкогенного цитокина IL-17A и IL-10, а СНК-578 – IL-6, IL-10 и IL-17A. На концентрацию IFN- $\gamma$  производные 5-оксипиримидинов не оказывали подавляющего действия во всех опытных группах.

Впервые определены у СНК-578 и подтверждены у СНК-411 противоопухолевые свойства на модели эпидермоидной карциномы легкого Lewis (LLC). СНК-578 тормозило рост объема опухоли на 72,2%. Впервые были определены антиметастатические свойства СНК-578 и подтверждены у СНК-411 на модели LLC после удаления первичного опухолевого узла – соединения СНК-411 и СНК-578 и в комбинации с доксорубицином, подавляли процесс метастазирования. На модели LLC введение СНК-411 и СНК-578 выражено снижало содержание провоспалительных и проонкогенных Th2 цитокинов IL-4, IL-5, IL-6 и не оказывало негативного влияния на Th1 цитокин IFN- $\gamma$ .

### **Научно-практическая значимость исследования**

Определены направления поиска соединений с противовоспалительными, противоаллергенными, противоопухолевыми и антиметастатическими свойствами в ряду производных 5-оксипиримидина.

Обоснованы перспективы производных 5-оксипиримидина для разработки в качестве малотоксичных противоопухолевых лекарственных средств, участвующих в подавлении действия провоспалительных и проонкогенных цитокинов, для повышения качества жизни онкологических больных и иммунотерапии злокачественных новообразований. Созданы предпосылки для более полного изучения механизмов противоопухолевого, антиметастатического и противоаллергенного действия производных 5-оксипиримидина. Получены новые данные, характеризующие фармакологическую активность соединений при нарушении баланса Th1/Th2 цитокинов в сторону Th2 воспаления, что актуально для применения их в качестве противоаллергенных средств, а также для возможного применения малотоксичных производных 5-оксипиримидина с ингибиторами контрольных точек при Th2 воспалении у онкобольных.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений**

Исследование выполнено на достаточном экспериментальном материале. Выполнены повторы серий опытов, применены адекватные методы статистического анализа. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений не вызывает сомнений.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа Коржовой К.В. написана по традиционному плану, изложена на 117 страницах машинописного текста, содержит 22 рисунка и 16 таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами и их обсуждением, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 272 источника, в том числе 89 отечественных и 183 зарубежных публикаций. Во введении показана актуальность исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы написан на 28 страницах машинописного текста и содержит современные представления о микроокружении опухолей, лечении рака легкого и рака шейки матки, роли Th2 цитокинов и семейства интерлейкина 17 в иммунопатологических процессах, раскрыт механизм их действия при онкологических заболеваниях. Охарактеризованы соединения, созданные на основе пиримидинов, которые оказывают противовоспалительное действие, ускоряют процессы репаративной регенерации,

стимулируют клеточные и гуморальные факторы иммунитета, активизируют лейко- и эритропоз, а также эффективны в качестве противовирусных и противоопухолевых средств.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» описаны методы исследования и техника постановки экспериментов для выполнения поставленных задач, в частности методы изучения иммуностропной, противовоспалительной и противоаллергенной активности производных 5-оксипиридина, методы оценки противоопухолевой и антиметастатической активности соединений с использованием моделей перевиваемой опухоли карциномы легкого Lewis (LLC) и рака шейки матки РШМ-5. Исследование цитокинов в сыворотке крови животных-опухоленосителей рака шейки матки РШМ-5 и LLC проводили на проточном лазерном цитометре BD FACS CANTO II.

В третьей главе «Результаты исследования» представлены полученные Коржовой К.В. данные о влиянии СНК-578 отдельно и в комбинации с доксорубицином на гуморальное и клеточное звено иммунитета, фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов, на активность нейтрофилов в тесте хемилюминесценции действие, цитостатическое действие СНК-578 на показатели клеточности тимуса и селезенки. Установлены выраженные противовоспалительные свойства у СНК-578 и подтверждены у СНК-411 на моделях реакции воспаления на конканавалин А и каррагенан, а также противоаллергенное действие соединений на модели системной анафилаксии на овальбумин у морских свинок альбиносов. На модели карциномы легкого Lewis подтверждены полученные ранее данные о противоопухолевой активности СНК-411 в комбинации с доксорубицином и выявлена выраженная эффективность действия СНК-578 на показатели торможения роста опухоли и выживаемость животных. На модели рака шейки матки РШМ-5 обнаружено выраженное подавление роста опухоли соединением СНК-578, показано супрессивное влияние производных 5-оксипиридина на цитокины с проонкогенной активностью (IL-6, IL-10 и IL-17A), при отсутствии подавляющего влияния на уровень Th1-цитокина IFN- $\gamma$  в сыворотке крови животных-опухоленосителей.

На модели карциномы легкого Lewis после удаления первичного опухолевого узла установлены выраженные антиметастатические свойства СНК-411, СНК-578 и сочетания СНК-578 с доксорубицином, а также повышение выживаемости в группе животных, получавших СНК-411 и СНК-578 с доксорубицином, определено выраженное супрессивное влияние производных 5-оксипиридина на цитокины с провоспалительной и проонкогенной активностью (IL-4, IL-5, IL-6) при отсутствии подавляющего влияния на уровень Th1-цитокина IFN- $\gamma$  в сыворотке крови животных-опухоленосителей LLC.

На основе выявленного спектра фармакологической активности сформулирована гипотеза о наличии у СНК-578 и СНК-411 поликомпонентного механизма действия, включающего снижение концентрации провоспалительных и проонкогенных Th2 цитокинов, высокий уровень которых, согласно данным литературы, в сыворотке крови мышей-опухоленосителей и онкобольных коррелирует с прогрессией опухоли, метастазированием и неблагоприятным прогнозом для общей выживаемости. Полученные экспериментальные результаты обработаны с применением современных методов статистики.

Обсуждение результатов представляет собой обобщение полученных результатов, сравнение их с литературными данными, анализ итогов выполненного исследования, перспективы дальнейшей разработки темы.

Диссертация содержит пять выносимых на защиту положений, которые полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы. В диссертации приведено 8 выводов, которые обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации и подтверждаются полученными результатами. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций соискателя обеспечивается количественной стороной полученного экспериментального материала и качеством его обработки.

Автореферат соответствует содержанию диссертации.

По результатам опубликовано 10 печатных работ, из них 4 статьи в журналах из перечня рецензируемых научных журналов, определенных ВАК Минобрнауки РФ и входящих в международные базы цитирования (WoS – 1, Scopus – 3) и 6 тезисов в материалах российских и международных конференций. Публикации отражают основные результаты, представленные в диссертационной работе.

Критических замечаний по работе нет. В плане дискуссии хотелось бы услышать ответы автора на следующие вопросы:

1. В ранее проведенном МТТ-тесте цитотоксического влияния СНК-411 на рост клеток К-562 было обнаружено, что соединение в концентрации уменьшало долю жизнеспособных клеток на 36,0% и 18,1%, соответственно. Были ли проведен аналогичный тест для соединения СНК-578?
2. Результаты проведенного исследования указывают на возможное подавление ЦОГ-2, что необходимо исследовать в дальнейшем для понимания механизма противовоспалительной активности 5-оксипиридина. Как указывают? Неясно из представленных данных. Какого соединения конкретно или обоих?

3. В режиме предобработки диоксидином в дозе 200 мг/кг, СНК-411 выражено подавлял его действие во всех дозах (10 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг), что указывает на его антиоксидантное действие, которое нужно подтвердить и на других моделях. На каких других моделях планируется это подтвердить? На каких изучалось?

### Заключение

Диссертация Коржовой Ксении Витальевны «Противоопухолевая, противовоспалительная активность и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина и их комбинаций с доксорубицином», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология, является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, которая содержит решение научной задачи – изучения противоопухолевой и иммунофармакологической активности перспективных для дальнейшей разработки соединений СНК-411 и СНК-578, что имеет важное значение для фармакологии, клинической фармакологии.

По актуальности темы, научной новизне, методологии и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Коржова Ксения Витальевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология.

Ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», кандидат биологических наук



Соколовская Алиса Анатольевна

Москва, 125315, Балтийская, 8  
e-mail: [alice.sokolovskaya@gmail.com](mailto:alice.sokolovskaya@gmail.com)  
тел.: 8(903)1620526

Подпись к.б.н. Соколовской Алисы Анатольевны  
ЗАВЕРЯЮ:

«29» апреля 2022 г.

Зам. директора  
по общим вопросам



Борис Валентинович Матвеев

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
Почтовый адрес: 125315, ул. Балтийская, д.8. Тел.: +7(499)151-17-56 E-mail: [niiopp@mail.ru](mailto:niiopp@mail.ru)