

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук», член-корр. РАН, доктор биологических  
наук, профессор

Степанов В. А.

«18 апреля» 2022 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертационной работы 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 темы выполненного исследования

Злокачественные новообразования занимают лидирующие позиции среди всех патологий по причине смертности, занимая 2 место в структуре общей заболеваемости. По прогнозам ВОЗ, в ближайшие два десятилетия число заболевших раком возрастет примерно на 70%, при этом ежегодный прирост количества онкобольных составит 22 млн человек. В Российской Федерации ежегодно регистрируется около 500 тыс. новых случаев злокачественных новообразований, у большинства из них болезнь обнаруживается на III-IV стадии. По смертности среди онкозаболеваний лидирует рак легких (19% у мужчин и 15% у женщин). Среди женской популяции мира в большинстве стран наиболее часто встречается рак молочной железы (15%) и рак шейки матки (7%).

Классическими методами лечения онкологических больных являются лучевая терапия, хирургическое лечение и химиотерапия. Хирургическое вмешательство успешно выполняется, как правило, больным на ранних стадиях заболевания. Несмотря на достижения современной химиотерапии злокачественных новообразований, проблема повышения эффективности лечения опухолей остается крайне важной.

Наряду с решением задач по увеличению эффективности за счет избирательной доставки лекарственных средств в опухолевые клетки, снижению токсичности и преодолению множественной лекарственной резистентности идет расширенный поиск новых подходов к лечению раковых заболеваний. В настоящее время доказана ключевая роль

воспаления в онкогенном процессе и метастазировании опухолей: хроническое воспаление и его медиаторы (провоспалительные и проонкогенные цитокины) усиливают течение онкогенеза, влияя на опухолевые клетки и клетки микроокружения. Установлено, что 20-25% всех онкологических заболеваний возникает на фоне хронических инфекций и хронического воспаления. Воспаление играет важную роль в развитии опухолевого процесса, влияя на иммунный надзор на разных стадиях заболевания, включая инициирование роста опухоли и метастазирование. В последние годы накоплены данные о механизмах избегания опухолевыми клетками иммунного надзора, что способствует развитию злокачественного новообразования и метастазов. В настоящее время фундаментальные исследования в экспериментальной и клинической онкологии направлены на поиск характерных особенностей раковой клетки с целью обнаружить мишени для противоопухолевой иммунотерапии. Внимание исследователей привлекает изучение эффективности ингибиторов иммунных контрольных точек (ИИКТ) – анти-CTLA-4, анти-PD1-моноклональных антител и других таргетных препаратов. Однако большинство высокомолекулярных таргетных препаратов обладают выраженным побочным действием, в том числе вызывают реакции гиперчувствительности и, кроме того, быстро теряют свою эффективность в лечении онкозаболеваний.

#### **Научная новизна исследования**

В диссертационной работе Коржовой К.В. впервые исследованы иммунофармакологические, противовоспалительные, противоопухолевые и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина СНК-578 (хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина), выявлена или подтверждена аналогичная активность соединения СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина).

В результате проведенных исследований производных 5-оксипиримидина на моделях реакции воспаления на конканавалин А и каррагенан впервые установлены выраженные противовоспалительные свойства СНК-578, сопоставимые с диклофенаком. В экспериментах на морских свинках-альбиносах было впервые показано подавление реакции анафилаксии на овальбумин под влиянием соединений СНК-411 и СНК-578. Выявлено, что соединение 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 обнаружены выраженные противоопухолевые свойства производных 5-оксипиримидина СНК-578 и СНК-411 на модели рака шейки матки РШМ-5: торможение роста опухоли при введении животным СНК-578 достигало 86,5%. Введение СНК-411

подавляло уровни проонкогенного цитокина IL-17A и IL-10, а использование СНК-578 – IL-6, IL-10 и IL-17A. На концентрацию IFN- $\gamma$  производные 5-оксипиримидинов не оказывали подавляющего действия во всех опытных группах.

У соединения СНК-578 впервые определены противоопухолевые свойства на модели эпидермоидной карциномы легких Льюис, торможение объема опухоли при этом составило 72,2%. Впервые выявлены антиметастатические свойства СНК-578 после удаления первичного опухолевого узла карциномы легких Льюис, при этом соединения СНК-411 и СНК-578 и в комбинации с доксорубицином подавляли развитие процесса диссеминации. Показано, что введение СНК-411 и СНК-578 мышам с карциномой легких Льюис выражено снижало содержание провоспалительных и проонкогенных Th2 цитокинов IL-4, IL-5, IL-6 и не оказывало негативного влияния на Th1 цитокин IFN- $\gamma$ .

Совокупность полученных результатов позволила признать возможным широкий спектр действия соединений ряда СНК с наличием иммунофармакологических, противовоспалительных, противоаллергенных, противоопухолевых и антиметастатических свойств, что нашло подтверждение в экспериментах на различных моделях *in vivo*.

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

Диссертационное исследование Коржовой К.В. показало перспективность производных 5-оксипиримидина для разработки малотоксичных лекарственных средств, участвующих в подавлении действия провоспалительных и проонкогенных цитокинов, для повышения качества жизни онкологических больных и иммунотерапии злокачественных новообразований. Создан научно-технический задел для изучения механизмов противоопухолевого, антиметастатического и противоаллергенного действия соединений – производных 5-оксипиримидина. Получены новые данные, характеризующие фармакологическую активность соединений при нарушении баланса Th1/Th2 цитокинов в сторону T2 воспаления, которые важны также и для создания новых противоаллергенных препаратов, отличающихся от обычных противогистаминных средств, а также для возможного применения малотоксичных производных 5-оксипиримидина с ингибиторами контрольных точек при T2 воспалении у онкобольных.

#### **Степень обоснованности научных положений и выводов**

Научные положения и выводы, представленные в диссертационной работе Коржовой Ксении Витальевны, основаны на результатах экспериментов, выполненных на достаточном количестве экспериментальных животных – 665 мышей, 70 крыс, 56 морских свинок. Характер и количество полученного научного материала адекватны целям и задачам диссертации, результаты исследований подтверждаются адекватными методами статистического анализа. Объем экспериментальных данных и их обработка позволяют

считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

### **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. Построение диссертации стандартное, она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 272 источников, в том числе 89 отечественных и 183 зарубежных публикаций. Следует отметить, что из этого списка за последние 5 лет (с 2017 года) опубликованы 38 источников (14%).

Во введении показана актуальность исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы содержит современные представления о микроокружении опухолей, лечении рака легкого и рака шейки матки, роли Th2 цитокинов и семейства интерлейкина 17 в иммунопатологических процессах, механизм действия которых при онкологических заболеваниях значительно более полно определен за последние 5 лет. Охарактеризованы соединения, имеющие в своей структуре пиримидиновое кольцо, которые занимают одно из ведущих мест в ряду антиканцерогенных препаратов, представлены актуальные данные о пиримидинах как перспективной группы для поиска новых лекарственных препаратов.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описаны методы исследования и техника постановки экспериментов для выполнения поставленных задач, в частности, методы изучения иммуностропной, противовоспалительной и противоаллергенной активности производных 5-оксипиримидина, методы оценки противоопухолевой и антиметастатической активности соединений с использованием моделей перевиваемых карциномы легкого Lewis (LLC) и рака шейки матки (РШМ-5), а также метод проточной цитометрии для исследования уровня цитокинов в сыворотке крови у животных с перевиваемыми опухолями. Описан дизайн исследования и способы статистической обработки экспериментальных данных.

В главе «Результаты исследования» представлены полученные данные о влиянии СНК-578 при изолированном введении и в комбинации с доксорубицином на гуморальное и клеточное звено иммунитета, фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов, о действии 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 в тесте оценки системной анафилактики на овальбумин. На модели карциномы легкого Льюис подтверждены полученные ранее данные о противоопухолевой активности СНК-411 в комбинации с доксорубицином. Показано ингибирующее влияние соединения СНК-578 на рост опухолевого узла и повышение продолжительности жизни животных с карциномой легких Льюис. На модели рака шейки матки РШМ-5 обнаружено подавление роста опухоли соединением СНК-578, превышающее в 2 раза эффективность СНК-411, показано супрессивное влияние производных 5-оксипиримидина 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 Льюис после удаления первичного опухолевого узла установлены выраженные антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина СНК-411, СНК-578, а также сочетания СНК-578 с доксорубицином. Увеличение продолжительности жизни зафиксировано в группах животных, получавших СНК-411 и СНК-578 в сочетании доксорубицином. Определено выраженное супрессивное влияние производных 5-оксипиримидина 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 рабочая гипотеза о наличии у СНК-578 и СНК-411 механизма действия, включающего снижение концентрации 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 корректно 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, логично вытекают из основного содержания диссертации и подтверждаются полученными результатами. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций соискателя обеспечивается достаточным объемом полученного экспериментального материала и качеством его обработки.

Автореферат соответствует содержанию диссертации.

### **Характеристика публикаций по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 4 статьи в журналах из перечня рецензируемых научных журналов, рекомендованных 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.

### **Рекомендации по использованию результатов**

Полученные данные о фармакологической активности новых производных 5-оксипиримидина могут быть использованы в научных организациях, проводящих исследования в области экспериментальной онкофармакологии.

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова целесообразно продолжить дальнейшего углубленного изучения специфической активности и механизмов действия производных 5-оксипиримидина с целью определения возможных направлений разработки на их основе новых средств фармакотерапии опухолей.

По работе есть непринципиальные замечания, не влияющие на общую высокую оценку диссертационного исследования:

1. Заголовки таблиц и названия рисунков выполнены с отклонением от ГОСТ Р.0.11-2011 (Правила оформления диссертации и автореферата). Не соблюдаются интервалы между заголовками раздела (подраздела) и следующим текстом.

2. В главе «Результаты исследования» допускается дублирование одних и тех же данных в виде табличного и графического материала.

3. Для групп сочетанного использования доксорубидина и производных 5-оксипиримидина одним из контролей является группа животных, получающих цитостатик изолированно, хотелось бы видеть сравнение показателей этих экспериментальных групп.

В качестве дискуссии хотелось получить ответы на следующие вопросы:

1. В качестве одного из критериев оценки эффективности лечения при анализе развития процесса диссеминации в работе использовалась шкала, разработанная Tarin and Price (1979), позволяющая оценить степень метастатического поражения легких в зависимости от количества и размера метастазов. Какие показатели метастазирования в Ваших экспериментах позволяли отнести животных к группе с высокой степенью поражения?

2. При описании эксперимента, посвященного оценке противоопухолевой активности производных 5-оксипиримидина на модели рака шейки матки-5 высчитывалось тор-

можение роста опухоли по массе и увеличение продолжительности жизни. Означает ли это, что каждую группу из десяти животных делили пополам?

### 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, содержащей решение научной задачи – оценки спектра противоопухолевой и противовоспалительной активности и механизмов действия новых производных 5-оксипиримидина, что имеет важное значение для фармакологии, клинической фармакологии. По актуальности темы, научной новизне, методологии и практической значимости, публикациям диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 11.09.2021), 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.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании лаборатории онкофармакологии НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга Томского НИМЦ « 14 » апреля 2022 г., протокол № 5.

Заведующий лабораторией онкофармакологии  
Научно-исследовательского института фармакологии  
и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга  
Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук», доктор биологических наук,  
профессор

Адрес: 634028, г.Томск, пр.Ленина, д.3  
Тел: 8(3822)41-77-47  
e-mail: zep0929@mail.ru

Зуева Елена Петровна

«Подпись Зуевой Елены Петровны заверяю»  
Ученый секретарь Томского НИМЦ  
И.Ю. Хитринская / к.б.н. Хитринская И.Ю./

« 18 » апреля 2022 г.

