

Отзыв

официального оппонента на диссертацию **Чепановой Арины Александровны** «Разработка ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 в качестве сенсбилизаторов действия ингибитора топоизомеразы 1», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – молекулярная биология

Несмотря на значительный прогресс в лечении онкологических заболеваний, достигнутый благодаря совершенствованию диагностики, хирургических и лекарственных методов терапии, смертность онкологических больных остается высокой. Одним из наиболее перспективных подходов к лечению ряда онкологических заболеваний остается комбинированная химиотерапия, при которой помимо основного цитотоксического агента пациент получает другие препараты, позволяющие скорректировать направленность действие основного препарата, увеличить его терапевтический интервал, а также избирательно увеличить чувствительность опухолевых клеток к нему. Одной из направлений таких исследований является поиск ингибиторов ферментов системы репарации ДНК. Селективное воздействие, направленное на ингибирование ферментов репарации ДНК, может быть основой как монотерапии, так и эффективной сопровождающей терапии. В мировой практике уже существуют примеры успешного воздействия на ферменты репарации. Так, ингибиторы фермента поли-(АДФ-рибозо)-полимеразы 1: олапариб, рукапариб, нирапариб, велипариб и талазопариб, применяются для лечения рака молочной железы, яичников и других.

Диссертационная работа Чепановой Арины Александровны посвящена поиску ингибиторов фермента репарации тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (Tdp1) и представляет собой систематическое исследование, в рамках которого в качестве ингибиторов Tdp1 были изучены соединения на основе природных биологически активных веществ.

Фермент репарации тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) является перспективной молекулярной мишенью для противоопухолевой терапии, поскольку участвует в удалении повреждений, вызванных ингибиторами топоизомеразы (Top1) – широко применяемыми в клинической практике противоопухолевыми препаратами. Применение ингибиторов Tdp1 рассматривается как один из подходов к увеличению эффективности терапии и/или снижению интенсивности побочных эффектов традиционных генотоксических препаратов.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования

На первом этапе работы был проведен скрининг широкого круга химических соединений на их способность ингибировать Tdp1. Впервые в качестве ингибиторов Tdp1 были исследованы производные хромена, адамантана, а также цианопроизводные, фураноновые и гидразонотиазольные производные усниновой кислоты с различными

заместителями. Было показано, что многие соединения этих классов обладают высокой ингибирующей активностью в отношении рекомбинантной Tdp1.

Далее в работе была изучена цитотоксическая активность наиболее эффективных ингибиторов Tdp1 в отношении линий опухолевых клеток. Поскольку ингибиторы Tdp1 предполагается использовать в качестве поддерживающей терапии или усиления действия используемых противоопухолевых препаратов, внимание было сконцентрировано на поиске ингибиторов с низкой цитотоксичностью.

Было показано, что соединения на основе хрома, адамантана и усниновой кислоты обладают умеренной цитотоксичностью или нетоксичны, что позволило выбрать нетоксичные концентрации ингибиторов для изучения их влияния на цитотоксический эффект топотекана. Наиболее эффективными сенсibilizаторами опухолевых клеток к действию топотекана оказались гидразонотиазольные производные усниновой кислоты. Было показано, что соединения 9e и 20d усиливают действие топотекана в 4,7 и 7,5 раз, соответственно.

Методом ДНК-комет было продемонстрировано увеличение уровня повреждения ДНК при комбинированном использовании соединений 9e или 20d с топотеканом по сравнению с эффектами топотекана в монорежиме. Методом проточной цитофлуориметрии показано, что при совместном действии соединения 20d с топотеканом происходит значительное увеличение уровня активации апоптоза в культуре клеток по сравнению с действием топотекана в монорежиме, что делает 20d перспективным для изучения его способности выступать в роли сенсibilizатора опухолевых клеток к действию топотекана. В заключительной части исследования, автором было показано, что ингибитор Tdp1 на основе усниновой кислоты способен усиливать противоопухолевые и антиметастатические эффекты топотекана в комбинации *in vivo*.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Чепановой А.А. построена по традиционной схеме и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов и обсуждения, выводов, списка используемой литературы и приложения. Работа изложена на 154 страницах, включает 53 рисунка и 9 таблиц. Список литературы содержит 244 литературных источника. Приложение представлено на 32 страницах и включает 9 таблиц.

Во введении автор описывает существующую проблему, формулирует цели и задачи своей работы, обосновывает актуальность исследования и практическую значимость результатов.

В литературном обзоре автор раскрывает механизм работы белка Tdp1, его каталитический механизм и субстраты, а также рассматривает роль Tdp1 в процессах репарации ДНК. В обзоре литературы также приводятся данные об известных к настоящему моменту времени ингибиторах Tdp1.

В главе «Материалы и методы» описаны научно-методологические подходы, которые были применены. Методическая база соответствует поставленным цели и задачам исследования. Объем проведенной экспериментальной работы достаточен для получения достоверных данных.

В главе «Результаты и обсуждение» содержится изложение полученных результатов и их аргументированный анализ. Глава разделена на четыре части, из которых первые три посвящены результатам экспериментов *in vitro* и характеризуют ингибиторную активность 140 производных хромона, адамантана и усниновой кислоты в отношении очищенного фермента Tdp1, собственную цитотоксичность ксенобиотиков и их влияние на цитотоксический эффект топотекана. Здесь приводится обоснование выбора соединений для дальнейших исследований. Приводятся исследования способности агентов-лидеров влиять на генотоксические, цитотоксические и проапоптотические эффекты топотекана. Четвертая часть главы посвящена результатам экспериментов по моделированию процессов канцерогенеза *in vivo*. В ней рассматривается противоопухолевое и антиметастатическое действие гидразонотиазольного производного усниновой кислоты в монорежиме и в комбинации с топотеканом в отношении карциномы легких Льюис.

В разделе «Заключение» автор проводит анализ полученных данных. Выводы диссертации закономерно вытекают из полученных результатов и полностью отражают содержание работы.

Замечания и вопросы

Диссертация выполнена на высоком уровне, принципиальных замечаний по работе нет, однако имеется несколько вопросов по сути исследования:

- 1) При исследовании влияния соединений 20d и 9e на действие топотекана было показано, что оба агента обладают способностью увеличивать эффективность лекарственного препарата. Были ли проведены расчёты типа взаимодействия агентов: носит ли оно синергический или аддитивный характер?
- 2) На завершающих этапах исследования *in vitro* оба агента 9e и 20d продемонстрировали высокую эффективность, почему для экспериментов *in vivo* было выбрано именно соединение 20d?
- 3) В экспериментах на животных было выявлено статистически незначимое увеличение частоты появления метастазов при действии соединения 20d в монорежиме, что может быть связано с его способностью увеличивать уровень повреждений ДНК в тесте ДНК-комет. Какой молекулярный механизм мог бы лежать в основе такого генотоксического действия?

Заключение

В целом, диссертационная работа Чепановой Арины Александровны «Разработка ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 в качестве сенсibilизаторов действия

ингибитора топоизомеразы 1» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, которая вносит вклад в развитие молекулярной биологии и фундаментальной онкологии. Работа Чепановой А.А. соответствует требованиям, установленным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации Чепанова А.А заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – молекулярная биология.

Официальный оппонент: Заведующий лабораторией канцерогенных веществ НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор биологических наук



Кирсанов Кирилл Игоревич
14 / 11 / 2022 г.

Я, Кирсанов Кирилл Игоревич, согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой Чепановой А.А.

Подпись Кирсанова К.И. заверяю

Учёный секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна

Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе 24
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сайт: <https://www.ronc.ru/>
Тел.: 8 (495) 628-44-53
Email: info@ronc.ru