

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Кузнецової Галини Миколаївни «Вплив неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на вісь запалення-фіброз-канцерогенез (на прикладі органів травлення)», представленій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Онкологічні захворювання сьогодні посідають одне з чільних місць у структурі загальної захворюваності людства, і, за прогнозами, найближчим часом можуть вийти на перше місце. Однак, не зважаючи на тривалу історію боротьби з цією недугою, лікарських засобів, які б дозволяли повністю позбутися цього захворювання, так і не створено. Іншим прикладом поширеної і давно відомої хвороби, яка має вельми несприятливий прогноз і не піддається консервативному лікуванню, є цироз печінки. І хоча інформації щодо причин, передумов, патогенетичних механізмів розвитку і наслідків цих захворювань накопичено досить багато, однак, скоріш за все, недостатньо для обґрунтованого вибору оптимальної мішені лікарського втручання.

Очевидно, що попередження будь-якого захворювання буде завжди більш ефективним за його лікування. Однак, постає питання розрізнення передумов розвитку того чи іншого захворювання, коли профілактика має сенс. Очевидно також, що біологічні механізми, відповідальні за розвиток певних захворювань, в тому числі раку і цирозу, запускаються за станів, що їм передують. Тому встановлення взаємозв'язків між різними патологічними станами, що передують чи супроводжують окремі захворювання, та виокремлення їх спільних молекулярних механізмів відкриває нові перспективи профілактики і лікування останніх.

Зв'язок між хронічним запаленням та злоякісним переродженням встановлений для багатьох органів і систем і підкріплений даними епідеміологічних досліджень. Встановлений також зв'язок між хронічним

запаленням і фіброзом, а також між фіброзом і раком печінки. Серед численних молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку зазначених захворювань, привертають увагу спільні сигнальні шляхи – сигнальні шляхи рецепторів ростових факторів. Однак, не зважаючи на їх визнану роль у патогенезі хронічного запалення, фіброзу та злоякісного переродження, принаймні товстої кишки та печінки, протизапальних та протифіброзних засобів на основі інгібіторів рецепторів ростових факторів не створено, і навіть можливість їх застосування наразі обмежується окремими академічними дослідженнями. У зв'язку з цим, дисертаційна робота Кузнецової Г.М., присвячена обґрунтуванню можливості і доцільності впливу неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів (на прикладі окремих сполук) на процеси запалення, фіброзу і канцерогенезу товстої кишки та печінки як послідовні ланки одного патологічного процесу, є актуальною і практично значимою.

Дисертаційна робота має традиційну структуру та складається із вступу, 9 розділів (огляд літератури; матеріали і методи досліджень; 6 розділів експериментальних досліджень; аналіз та обговорення), узагальнення, висновків та списку посилань. Текст дисертаційної роботи викладено на 324 сторінках машинописного тексту, містить 59 рисунків і 33 таблиці. Список посилань налічує 345 джерел.

У розділі «Огляд літератури» на підставі аналізу епідеміологічних даних та даних щодо основних патогенетичних механізмів розвитку хронічного запалення, фіброзного переродження та раку товстої кишки сформувано уявлення про причинно-наслідкові зв'язки між хронічним запаленням та злоякісним переродженням, між хронічним запаленням та фіброзом, та між фіброзом і злоякісним переродженням на прикладі патологій товстої кишки та печінки. Проаналізовано роль сигнальних шляхів рецепторів ростових факторів у патогенезі хронічного запалення, фіброзу та злоякісного переродження товстої кишки та печінки. Детально висвітлено сучасні підходи до терапії захворювань, пов'язаних із зазначеними патологічними станами, а

саме, запальних захворювань кишечника, фіброзу та цирозу печінки, колоректального раку, раку печінки, а також окреслено потенційні напрямки корекції цих патологій шляхом впливу на сигнальні шляхи, пов'язані з ростовими факторами. В цілому, огляд літератури є достатньо повним і ретельним аналізом стану і перспектив досліджень у вибраному автором дисертації науковому напрямку.

У розділі *«Матеріали та методи досліджень»* охарактеризовано використані в якості неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів сполуки 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (МІ-1), 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-С61-бутаноат (С60-МІ-3ОН) та немодифіковані С60 фулерени. Детально описано використані моделі, що відтворюють гостре та хронічне запалення товстої кишки, гостре та хронічне ураження печінки, гострий та хронічний холангіт як ініціюючі стадії фіброзу, власне фіброз і цироз печінки гепатоцелюлярного та біліарного походження, рак товстої кишки, гепатоцелюлярну карциному та холангіокарциному у лабораторних щурів. Наведено методології оцінки морфології та функцій цільових органів за модельованих патологічних станів. Представлено описи *in silico* та *in vitro* методик, використаних для з'ясування механізмів дії досліджених сполук, а також методи статистичного аналізу.

У розділі *«Місцеві та системні ефекти похідних піролу та С60 фулеренів за гострого запалення кишечника та печінки»* наведено та проаналізовано дані щодо локальних та системних змін в організмі тварин за умов дії досліджених сполук на тлі гострого запалення товстої кишки та печінки. Показано, що зазначені сполуки сприяють зменшенню ураження товстої кишки та печінки та частковому наближенню до норми значень сироваткових маркерів, що відображають функціональний стан печінки та нирок, що свідчить про місцеву та системну протизапальну дію цих сполук.

У розділі *«Місцеві та системні ефекти похідних піролу та С60 за хронізації запального процесу»* наведено результати досліджень автора щодо

здатності похідного піролу МІ-1 та С60 фулеренів пригнічувати морфо-функціональні прояви хронічного запалення товстої кишки та печінки. При порівнянні протизапальних та захисних ефектів сполук за гострої і хронічної патології автором було виявлено, що позитивні ефекти більш виражені саме за хронічного впливу, що узгоджується з гіпотезою про переважну реалізацію протизапальної активності сполук через пригнічення проліферації клітин, що набуває особливого значення у патогенезі хронічного запалення.

У розділі «Вплив сполук на початкові стадії фіброзного переродження» на підставі аналізу морфо-функціонального стану печінки показано здатність похідних піролу та С60 фулеренів пригнічувати її фіброзне переродження за моделювання гострого та хронічного холангіту, та його системні прояви і наслідки.

У розділі «Вплив С60FAS на розвиток фіброзу та цирозу печінки різної етіології» представлено результати досліджень щодо впливу С60 фулеренів на стан печінки щурів за моделювання її фіброзу та цирозу гепатоцелюлярного та біліарного походження, та зроблено висновок про здатність С60 виявляти протифіброзну активність за цих умов.

У розділі «Ефекти похідних піролу та С60FAS за злоякісного переродження органів травлення» проаналізовано місцеві та системні ефекти похідних піролу та С60 фулеренів за їх дії на тлі сформованого раку товстої кишки, та ефекти С60 фулеренів за їх дії на стадії розвиненого цирозу печінки, що передує її злоякісному переродженню. Встановлено здатність досліджених сполук пригнічувати розвиток колоректальних пухлин, зменшувати ступінь ураження печінки, сприяти частковому зменшенню негативних системних проявів раку та подовжувати виживання тварин-пухлиноносіїв.

У розділі «Механізми реалізації біологічної активності похідних піролу та С60FAS» узагальнено дані щодо можливих механізмів реалізації біологічної дії похідних піролу та С60 фулеренів, а саме, їх здатності зв'язуватися з АТФ-зв'язувальним центром рецепторів ростових факторів

EGFR, VEGFR та FGFR, антипроліферативній, проапоптичній, антиоксидантній активності, здатності C60 фулеренів впливати на експресію низки білків, залучених у проліферацію, диференціювання та апоптоз.

У розділі «Аналіз та обговорення: роль інгібування рецепторів ростових факторів у прогресії запалення – фіброз – канцерогенез на прикладі патологій органів травлення» на основі результатів власних досліджень, підкріплених даними літератури, проаналізовано можливість і доцільність інгібування рецепторів ростових факторів як підхід до пригнічення запалення, фіброзу та канцерогенезу товстої кишки та печінки, а також перспективи розробки лікарських засобів на їх основі для корекції зазначених патологічних станів.

У розділі «Узагальнення результатів досліджень» стисло і чітко підсумовано результати експериментальної роботи, які підтверджують обґрунтованість робочої гіпотези автора.

Висновки роботи нові, обґрунтовані, логічно впливають з експериментальних даних.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконувалась у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка упродовж 2012-2021 років в рамках наступних науково-дослідних тем: «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (№ ДР 0111U004648, 2011-2015 рр.); «Похідні піролу як протизапальні та протипухлинні сполуки нового покоління (№ ДР 0116U002639, 2016-2017 рр.); «Біосумісні водорозчинні C60 фулерени як протифіброзні та антинеопластичні засоби при злоякісних новоутвореннях печінки» (№ ДР 0118U000244, 2018-2020 рр.); «Новітні гібридні антипухлинні та протизапальні наноконплекси на основі піролів і C60 фулерену: створення, характеризування, фармакодинаміка і токсикологічна характеристика» (№ ДР 0119U100331, 2019-2021 рр.).

Новизна дослідження та одержаних результатів. Дисертаційна робота є оригінальним та завершеним дослідженням, у якому автором встановлено здатність похідних піролу 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону (MI-1) і 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-C61-бутаноату (C60-MI-3OH) та немодифікованих C60 фулеренів (C60FAS) пригнічувати гостре та хронічне запалення товстої кишки і печінки шурів (моделі гострого та хронічного коліту, гострого та хронічного гепатиту), фіброз печінки (моделі гострого та хронічного холангіту, гепатоцелюлярного та біліарного фіброзу), її цироз (гепатоцелюлярного та біліарного походження), пригнічувати розвиток колоректальних пухлин (модель раку товстої кишки) та зменшувати ураження печінки за її злоякісного переродження (моделі гепатоцелюлярної карциноми та холангіокарциноми), подовжувати термін життя тварин за раку печінки та сприяти поліпшенню їх загального стану. Автором показано, що механізми дії досліджених сполук не обмежуються здатністю блокувати АТФ-зв'язувальний сайт рецепторів ростових факторів EGFR, VEGFR та FGFR), а включають також антипроліферативну, проапоптичну, антиоксидантну активність, здатність впливати на експресію низки білків, залучених у проліферацію, диференціацію та апоптоз клітин. Автором також проаналізовано можливість застосування мультикіназних інгібіторів рецепторів ростових факторів як потенційних засобів впливу на хронічне запалення, фіброз і канцерогенез як послідовні ланки одного патологічного процесу. Отримані результати є суттєвим внеском у розуміння запалення, фіброзу і канцерогенезу як однієї патогенетичної послідовності, що може бути мішенню відповідної терапії.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі встановленої протизапальної, протифіброзної та протипухлинної активності C60 фулеренів та похідного піролу MI-1 автором обґрунтована можливість створення на їх основі засобів з цільовою протизапальною, протифіброзною, протипухлинною активністю чи комплексної дії, що можуть застосовуватися за раку товстої кишки і/чи печінки та їх передракових станів. Отримані

результати можуть бути підґрунтям нового напрямку застосування мультикіназних інгібіторів як універсальних засобів впливу на вісь «хронічне запалення – фіброз – канцерогенез» як один патологічний процес, а також використані в наукових дослідженнях та прикладних розробках, присвячених створенню нових лікарських засобів.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Автором проаналізована значна кількість літературних джерел переважно останніх років, присвячених проблематиці дослідження, що дало змогу обґрунтувати вибір теми наукової роботи та методичних підходів для виконання поставлених завдань на високому рівні. Експериментальні дані одержані автором з використанням сучасних та різноманітних методів дослідження, адекватних поставленим задачам, та оброблені відповідними статистичними методами, що дало змогу автору зробити обґрунтовані висновки. Наукові результати дисертації оприлюднено у високореєтингових виданнях та обговорено на численних міжнародних форумах, що підтверджує їх обґрунтованість та достовірність. З огляду на це, вважаю, що наукові положення дисертації та її висновки є цілком обґрунтованими, мають значне практичне й теоретичне значення і відповідають високому науковому рівню роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Матеріали дисертації висвітлені у публікаціях та наукових форумах. Зокрема, за матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 29 статей, серед яких 15 – у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus та Web of Science; 1 розділ монографії; 5 патентів на винаходи та корисну модель; 32 тези доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій і з'їздів.

Матеріал дисертації в цілому логічно оформлено, викладено науковою мовою, доцільно підкріплено ілюстративними засобами. Автореферат дисертації адекватно відображає її зміст.

Дизайн дослідження ретельно продумано. Тому до методичної частини, описового та ілюстративного матеріалу, статистичного аналізу результатів роботи зауважень не виникло. Єдиним недоліком тексту є окремі русизми та прямі запозичення з англійської мови там, де можна вжити відповідний український термін. Крім того, замість терміну «м'язовий шар» там, де говориться про середню оболонку товстої кишки, правильно вживати термін «м'язова оболонка», а вислів «раки епітеліального походження» являє собою тавтологію, тому що рак – це і є злоякісна пухлина епітеліального походження.

В дисертації проведено детальний аналіз і обговорення отриманих результатів. Не дивлячись на це, виникає ряд запитань:

1. Якою може бути причина підвищеного синтезу ростових факторів у «фіброзному середовищі»?
2. Різні моделі відтворювалися шляхом введення різних хімічних сполук (ANIT, DEN, ДМГ, АРАР), а функціональний стан органів визначали за одними і тими ж маркерами. А чи не впливають ці сполуки по-різному на, наприклад, АЛТ та інші маркери?
3. Найкращий ефект спостерігався за ректального введення С60, МІ - за інтраперитонеального, а С60-МІ-3ОН - за перорального. Чи не свідчить це про те, що остання композиція в організмі розпадається на складові?
4. Аналізуючи висновки дисертації, можна припустити, що ефекти досліджуваних сполук різні в залежності від типу порушень. Не могли б Ви сказати, це пояснюється різними механізмами розвитку патологій, чи різними механізмами дії сполук.

В цілому вказані недоліки не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора біологічних наук. Вважаю, що за обсягом зібраного матеріалу, рівнем, актуальністю та науковим значенням виконаних досліджень дисертація «Вплив неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на вісь запалення-фіброз-

канцерогенез (на прикладі органів травлення)» є завершеною науковою роботою, яка цілком відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор Кузнецова Галина Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри гістології та
ембріології Національного
медичного університету імені О.О.
Богомольця МОЗ України
доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України

Ю. Б. Чайковський

