

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора Сыроешкина Антона Владимировича на диссертацию Хиляль Абдуллы «Влияние некоторых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на пролиферацию клеток отдельных опухолевых линий», представленную в диссертационный совет ПДС 0300.006 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы диссертационной работы.

Одним из ключевых свойств клеток злокачественных новообразований является их метаболический атипизм. Преимущественно он характеризуется усиленным потреблением различных органических веществ, включая глюкозу, свободные жирные кислоты, холестерин, пиридиннуклеотиды и др. При этом отмечается ряд специфических особенностей обмена отдельных классов соединений. В частности, в опухолевых клетках наблюдается избыточное накопление полиаминов (таких веществ как спермидин, спермин, путресцин), которые, как было установлено в ряде исследований, играют существенную роль в канцерогенезе. Они способствуют пролиферации малигнизированных клеток, а также их миграции и метастазированию.

Более высокий уровень ПА в злокачественных опухолях обусловлен как их усиленным синтезом, так и снижением скорости деградации посредством окислительного дезаминирования либо прямого окисления. Исследование возможностей воздействия на ферменты, обеспечивающие данные процессы, рассматривается в качестве перспективного направления в поиске новых эффективных методов противоопухолевой фармакотерапии. Показано, что данные эффекты могут проявлять химические аналоги ПА, причём как за счёт воздействия на механизмы митотического цикла клеток, так и посредством активации ферментов, катализирующих распад собственных ПА опухолевых клеток.

В этой связи значительный интерес представляют исследования, в которых, с одной стороны, оценивается непосредственное антипролиферативное действие

новых органических соединений в отношении клеток опухолевых линий, а с другой стороны, анализируется их влияние на биохимические процессы. Оптимальной моделью для изучения особенностей метаболизма в тканях с усиленной пролиферацией служит бесклеточная тест-система, получаемая из ткани печени лабораторных животных, характеризующейся, в частности, активной продукцией ПА.

В последнее десятилетие отдельные процессы в экспериментальных исследованиях в области биологии и медицины стали постепенно заменяться математическими и компьютерными методами. Это позволяет снизить число используемых в работе лабораторных животных, а также получить возможность прогнозирования свойств изучаемых фармацевтических агентов в отношении ряда патогенетических механизмов. В частности, применяются такие методики как количественные корреляции «структура – анализ», позволяющая рассчитать количественные корреляции топологических индексов с активностью аминоксидаз для тестируемых соединений. Также активно применяется молекулярный докинг (стыковки) тестируемых соединений *in silico*, посредством которого возможно определение положения при взаимодействии соответствующего тестируемого вещества с аминокислотами.

Необходимо отметить, что появляются всё новые синтетические вещества, в структуру которых входят фрагменты, гомологичные ПА, что позволяет предположить у них антипролиферативные эффекты, связанные с воздействием на метаболизм собственных ПА опухолевых клеток. Таким образом, данное комплексное исследование новых гетероциклических, циклических и азотсодержащих органических соединений, сочетающее в себе методики анализа активности ферментов метаболизма ПА, оценку их антипролиферативной активности на культурах клеток трёх опухолевых линий, а также методы компьютерного моделирования, выполненное Хиляль Абдуллой, представляется, безусловно, актуальным.

Достоверность и новизна результатов диссертации.

Диссертационное исследование выполнено на высоком методическом уровне с использованием современных методов исследования при достаточном объёме выборки в каждой серии экспериментов. Влияние тестируемых соединений на активность ферментов синтеза и распада ПА оценивалось на бесклеточной тест-системе, полученной на основе регенерирующей печени крыс. Всего в эксперименте было задействовано 85 белых беспородных самцов крыс, опытные и контрольная группы включали в себя по 5 животных. Анализ антипролиферативного действия исследуемых органических соединений проводили с применением трёх культур клеток злокачественных опухолей человека: рака лёгкого линии A549, рака молочной железы SkBr-3 и рака шейки матки HeLa. Данные клеточные линии широко применяются в подобных исследованиях. Уровни ПА и активность ферментов синтеза ПА (ОДК, СПС и СМС) проводили методом ВЭЖХ, удельную активность ферментов распада ПА (ДАО, ПАО и СМО) определяли с помощью спектрофотометрии на оборудовании, сертифицированном для данных исследований. Количественные корреляции «структура – активность» (ККСА) рассчитывались по методу HU Q.N. et al. (2003) с помощью компьютерных программ «ChemicDescript» и «ChemicPen» (Попов П. И., 2003, 2005 гг). Для статистической обработки данных использовалось приложение MS Excel 2010, а для анализа данных молекулярного докинга – программа IBM SPSS Statistics 21.0 докинга. Все указанные методики полностью соответствуют цели и задачам диссертационного исследования. Таким образом, достоверность представленных в работе результатов не вызывает сомнений.

Автором представлены новые данные о влиянии тестируемых соединений на активность ферментов, ответственных за процессы синтеза и распада ПА на модели усиленной физиологической регенерации, а также об их антипролиферативных свойствах в отношении клеток злокачественных опухолей человека линий A549, SkBr-3 и HeLa. Впервые с использованием математических и компьютерных методов было исследовано связывание соответствующих соединений с ПАО, а также рассчитаны топологические индексы с активностью ферментов катаболизма ПА.

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

В основу научных положений, вынесенных на защиту, выводов и практических рекомендаций, положены результаты исследования, проведенного с соблюдением всех необходимых требований. Методы исследования, использованные в работе, полностью соответствуют поставленным задачам. В главах с описанием результатов собственного исследования представлены все числовые данные, полученные в соответствующих экспериментах, подвергнутые статистической обработке. Проводится их подробное описание и корректный анализ. Выводы об изменении значений исследуемых показателей делаются лишь при наличии статистически значимых отличий.

Ценность для науки и практики результатов работы.

Результаты диссертации Хиляль Абдуллы показали, что ряд исследованных органических соединений обладают антипролиферативным действием, что подтверждается данными, полученными в экспериментах на бесклеточной тест-системе и на клеточных линиях. Поскольку для ряда соединений (в частности, для вещества А3) нет прямой согласованности их эффектов в двух указанных сериях исследований, возникает предположение о том, что их потенциальное противоопухолевое действие, связанное с активизацией катаболизма ПА, может не реализовываться в виде подавления клеточной пролиферации. С другой стороны, для соединений А2 и А16 подобная согласованность прослеживается. Полученные данные вносят существенный вклад в развитие представлений о фундаментальных основах канцерогенеза и возможностях применения вновь синтезированных соединений для вмешательства в данные процессы.

Часть работы, связанная с применением методов расчёта количественных корреляций «структура – активность» (ККСА) и молекулярного докинга, показывает перспективность экспериментов *in silico* в прогнозировании биологических свойств новых органических соединений.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати.

По теме диссертации Хиляль Абдуллы опубликовано 7 работ, в том числе 6 публикаций в изданиях, индексируемых в международных базах цитирования WoS/Scopus.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Содержание автореферата соответствует тексту диссертационного исследования.

Апробация результатов работы. Результаты диссертации доложены на международных конференциях, включая «The 44-th FEBS Congress» (Краков, 2019 г.), «The 45-th FEBS Congress» (Любляна, 2021 г.), «The 48-th FEBS Congress» (Милан, 2024 г.), на заседании кафедры общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», 2023 г.

Оценка содержания диссертации.

Оформление диссертации Хиляль Абдуллы проведено по стандартному плану. Текст диссертации изложен на 123 страницах машинописного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, 3 главы с описание результатов собственного исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, список сокращений и список литературы, состоящий из 230 источников российской и зарубежной литературы. Работа проиллюстрирована 9 рисунками 13 таблицами.

Текст работы изложен грамотным научным языком. Результаты исследования описаны последовательно, чётко и подробно. Таблицы и рисунки информативны и корректно оформлены. Актуальность исследования, оценка степени разработанности темы, формулировки цели и задач работы полно и ясно

отражены во введении. Научная новизна и практическая значимость представляются достаточно убедительными.

В главе 1 представлен обзор литературы, который состоит из трёх разделов и содержит ссылки на публикации российских и зарубежных авторов преимущественно за последние 5 – 10 лет. В данной главе содержится достаточно полный и глубокий анализ состояния исследуемого вопроса. Так, в первом разделе анализируются данные, касающиеся роли ПА в механизмах физиологической клеточной пролиферации. Автором отражены современные представления о синтезе, катаболизме и утилизации ПА, их транспорте, а также роли в физиологических процессах, включая клеточную пролиферацию и программированную клеточную гибель. Далее, во втором разделе проводится анализ литературных данных об участии ПА в опухолевой пролиферации, в частности, в механизмах трансляции белков, ремоделировании хроматина, межклеточной сигнализации, аутофагии и др. процессах, связанных с канцерогенезом. В третьем разделе главы 1 проводится описание метаболизма ПА как потенциальной патогенетической мишени для противоопухолевой фармакотерапии. Литературный обзор логично подводит к цели диссертационного исследования. Автор делает заключение о том, что метаболизм ПА является потенциально уязвимым проявлением жизнедеятельности малигнизированных клеток, в связи с чем необходимо продолжать поиск и исследование химических агентов, способных оказывать на него повреждающее воздействие.

Глава 2 содержит подробное описание материала и методов исследования. Охарактеризован дизайн исследования, приведены структурные формулы всех тестируемых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений. Выбор данных веществ обосновывается тем, что они имеют определённое структурное сходство с другими органическими соединениями, для которых была доказана антипролиферативная активность. Описаны методы количественного анализа основных показателей обмена ПА в бесклеточной тест-системе, полученной на основе регенерирующей печени лабораторных крыс. Приводится подробное описание методик анализа удельной активности ДАО, ПАО и СМО в

бесклеточной тест-системе и определение уровней ПА и активностей ферментов синтеза ПА. Отдельный подраздел посвящен методике оценки цитотоксичности тестируемых веществ на клеточных культурах. В подразделе с описанием методики оценки количественных корреляций «структура-активность» (ККСА) приведены все формулы для расчёта топологических индексов с корректно оформленными ссылками на авторов. Также описана методика молекулярного докинга.

В главах 3, 4 и 5 представлены результаты собственного исследования с их подробным описанием и интерпретацией. Отмечается, что тестируемые гетероциклические, циклические и азотсодержащие соединения в основном повышают активность распада ПА в бесклеточной тест-системе. Веществами, наиболее активно увеличивающими активность аминоксидаз оказались А3, А16, А1, А2, А5. При этом на активность ферментов синтеза ПА в целом они не оказывали значительного влияния, за исключением соединений А5 и А16, которые проявляли ингибирующий эффект. Что касается результатов исследования действия тестируемых веществ на активность деления клеток опухолевых линий, то наиболее заметные изменения были отмечены для соединений А2 и А16, которые, в частности, проявили выраженное ингибирование пролиферации опухолевых клеток на линии рака лёгкого А549. При ККСА-анализе было установлено, что наиболее значимая зависимость активности ДАО характерна для индекса Балабана, зависимость ПАО – для индекса обхода (0,78) и зависимость СМО – для индекса электропии (0,53). При анализе данных молекулярного докинга было обнаружено, что статистически значимыми были различия в связывании с аминокислотой Val206.

Глава 6 посвящена обсуждению полученных результатов и сопоставлению их с данными, представленными в более ранних исследованиях. Данная глава состоит из двух подразделов: первый из них посвящен влиянию органических соединений отдельных классов на метаболизм природных ПА в тканях с усиленной пролиферативной активностью, а второй – особенностям влияния новых органических соединений направленного действия на скорость

пролиферации клеток отдельных опухолевых линий. Автор приходит к выводу, что аналоги ПА чаще всего способствуют уменьшению содержания эндогенных ПА клеток в основном посредством увеличения активности ферментов их распада. При этом анализ литературных данных также свидетельствует о том, что в исследованиях на клеточных линиях тестируемые соединения, влияющие на пролиферацию малигнизированных клеток, проявляют эффекты и в отношении активности ферментов метаболизма ПА. Однако для ряда соединений отмечена способность повышать активность ферментов синтеза ПА и снижать активность ферментов, отвечающих за их распад, что следует расценивать как потенциальный канцерогенный эффект.

В целом необходимо отметить, что представленные в диссертации Хиляль Абдуллы данные, их интерпретация и обсуждение с результатами аналогичных исследований других авторов обладают концептуальным единством и могут быть использованы для прогнозирования эффектов новых химических агентов, в том числе, с использованием методов ККСА-анализа и молекулярного докинга.

Несмотря на то, что диссертационная работа в целом выполнена на высоком уровне, при знакомстве с ней возникли вопросы:

- 1) Почему при анализе активности аминоксидаз не использовали специфические ингибиторы?
- 2) Считаете ли Вы, что для ККСА-исследований достаточно топологических индексов и можно не рассчитывать многомерные множества дескрипторов?

Предложенные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают общую положительную оценку представленной диссертации.

Заключение

Диссертационное исследование Хиляль Абдуллы «Влияние некоторых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на

пролиферацию клеток отдельных опухолевых линий» является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной и важной научной задачи по оценке влияния ряда органических соединений на метаболизм полиаминов в бесклеточной тест-системе и на пролиферацию клеток некоторых злокачественных опухолей.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Хиляль Абдулла, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Дата: 18 октября 2024 года

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой фармацевтической
и токсикологической химии
Медицинского института
ФГАОУ ВО «Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы»
доктор биологических наук
(05.13.01 Системный анализ (в биологии))
профессор



Сыроешкин Антон Владимирович

Подпись профессора А.В. Сыроешкина заверяю
Ученый секретарь Ученого совета
Медицинского института
ФГАОУ ВО «Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы»
к.фарм.н., доцент



Т.В. Максимова

Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 10к2, каб. 279
тел.: +79857677307
Электронная почта: syroeshkin-av@rudn.ru