

## ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук,  
заместителя директора по научной работе Института экспериментальной медицины  
Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный  
медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
профессора кафедры патологической физиологии лечебного факультета Института  
медицинского образования Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации Тороповой Яны  
Геннадьевны на диссертационную работу Негановой Маргариты Евгеньевны  
«Рациональный подход к поиску лекарственных агентов на основе взаимосвязи  
биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических  
заболеваний», представленную на соискание учёной степени доктора биологических  
наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки)**

Докторская диссертация Негановой М.Е. посвящена созданию рационального подхода к поиску противоопухолевых и нейропротекторных агентов, который основан на фундаментальной взаимосвязи биохимических механизмов ранней стадии патогенеза онкологических и нейродегенеративных заболеваний, опираясь на современные разработки в этой области.

Нейродегенеративные и онкологические заболевания являются одними из самых распространённых причин смертности населения во всем мире. В течение продолжительного времени пристальное внимание исследователей направлено на изучение механизмов возникновения и прогрессирования этих социально значимых заболеваний, однако многие аспекты патологических процессов остаются до конца не раскрыты. В последние годы все больше стало появляться научных данных о взаимосвязи некоторых ключевых биохимических каскадов, вовлеченных в ранние стадии развития онкологических и нейродегенеративных заболеваний. К таким патологическим процессам можно отнести аберрантное функционирование митохондрий, окислительный стресс, аномалии метаболизма и некоторые аспекты эпигенетической дисрегуляции.

Нацеливание на вышеперечисленные нарушения может стать перспективным подходом при создании системы отбора новых лекарственных кандидатов в нескольких фармакологических направлениях. В частности, вещества, оказывающие антиоксидантное и митопротекторное действие и влияющие на активность гистондеацетилазы 6 (HDAC6) могут выступать в качестве основы для разработки нейропротекторных препаратов. В свою очередь, вещества, обладающие про- или антиоксидантными свойствами, а также оказывающие деструктивное по отношению к митохондриям свойства и ингибирующие гистондеацетилазу 1 (HDAC1), могут проявлять цитотоксическое действие и быть потенциальными противоопухолевыми агентами.

В связи с тем, что большинство исследователей изучают биологическую активность потенциальных лекарственных средств лишь в рамках одного терапевтического направления, происходит потеря информации о потенциале соединения в других областях. Таким образом, проблематика изучения общих закономерностей биохимических каскадов нейродегенеративных и онкологических заболеваний является актуальной для построения и внедрения комплексной системы биологического тестирования химических веществ различной структуры для максимального раскрытия их терапевтического потенциала.

### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость**

Научная новизна диссертационной работы Негановой М.Е. заключается в том, что впервые был реализован рациональный подход к биологическому тестированию химических соединений, основанный на взаимосвязи биохимических каскадов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний, для рационализации ранних исследовательских этапов поиска лекарственных препаратов.

Анализ современного состояния исследований в рамках расширения представлений о механизмах развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний, проведенный в данной диссертационной работе, несомненно, имеет важное фундаментальное значение при решении ряда проблем современной биохимии и медицинской химии. Более того, важным практическим результатом диссертации является идентификация ряда эффективных нейропротекторных и противоопухолевых агентов различной структурной природы, которые в дальнейшем могут быть выведены на доклинические и клинические испытания в качестве перспективных лекарственных средств. Также в ходе выполнения диссертационного исследования была создана аннотированная база, содержащая комплексную информацию о химико-биологических свойствах веществ ряда природных и синтетических соединений. Она позволяет прогнозировать влияние потенциальных терапевтических агентов на биохимические мишени на основе структурно-функциональных закономерностей этих молекул и решать проблему виртуального скрининга для поиска потенциальных лекарственных агентов, тем самым увеличивая их вероятность использования в качестве терапевтического средства. В целом такого рода усовершенствование виртуального скрининга позволит сократить и время, и затраты, которые в огромном количестве расходуются при поиске и разработке новых лекарственных препаратов или биологически активных веществ в традиционной модели исследования.

Таким образом, новизна данной работы определяется как фундаментальным, так и яркими прикладными аспектами, которые впервые были реализованы автором диссертации в рамках общего цикла создания новых лекарственных препаратов.

**Достоверность** полученных результатов подтверждается многолетней исследовательской работой автора в области биохимии и смежных наук, использованием разнообразных современных методов компьютерного моделирования, участием в химическом синтезе новых веществ, рационально спланированными экспериментами по изучению биологической активности тестируемых соединений, применением валидированных методов исследования и уникального высокотехнологичного оборудования. Результаты работы были апробированы на многочисленных международных и российских научных конференциях в виде устных и стендовых докладов. Публикации автора по теме диссертации полностью отражают её содержание, при этом имеется значительное количество статей), опубликованных в высокорейтинговых рецензируемых журналах, индексируемых базами данных Web of Science, Scopus, РИНЦ.

#### **Личное участие автора**

Стоит отметить колоссальный вклад самостоятельной работы автора при проведении исследований в рамках данной диссертационной работы, включая постановку цели и задач, проведение химических и биологических экспериментов, а также статистической обработки данных. Также впечатляет проведенный анализ научной литературы, отражающий современные представления о взаимосвязи механизмов развития онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

#### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа оформлена в традиционной форме, изложена на 423 страницах, включает 27 таблиц и 76 рисунков, состоит из введения, 3-х глав, заключения и выводов. Список используемой литературы в работе Негановой М.Е. содержит 898 источников, из которых 880 – зарубежные.

Во введении отражена актуальность и новизна исследования, сформулированы цели и задачи, представлены положения, выносимые на защиту, а также описана теоретическая и практическая значимость работы.

В первой главе представлен исчерпывающий литературный обзор, отражающий современное состояние представлений о патогенезе нейродегенеративных и онкологических заболеваний, вкладе окислительного стресса, эпигенетической дисрегуляции гистоновых деацетилаз и митохондриальной дисфункции. В главу также включено подробное описание существующих препаратов, обладающих потенциальным

терапевтическим эффектом по отношению к данным заболеваниям. Литературный обзор качественно проиллюстрирован рисунками и таблицами, а также качественно структурирован.

Глава «Материалы и методы» отражает высокий методологический уровень данной диссертации, в ней подробно и грамотно описаны использованные автором современные методы *in silico*, *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* исследований. *In vitro* методы включали исследование антиоксидантной активности соединений, их влияние на митохондриальные характеристики, эпигенетическую регуляцию и клеточный метаболизм.

Нейропротекторные и противоопухолевые свойства соединений были подтверждены и методами *in vivo*, содержащими исследования острой токсичности, хемосенсибилизирующих свойств и ряд поведенческих экспериментов, такие как тесты Открытое поле, Распознавание нового объекта, Ускоряющийся ротород, Y-образный лабиринт, Водный лабиринт Морриса.

По окончании серии *in vitro* и *in vivo* экспериментов автором были проведено *ex vivo* тестирование, включающее биохимические, гистохимические и гистологические методы, основанные на флуориметрических и спектрофотометрических технологиях.

Для обнаружения межмолекулярных взаимодействий «соединение-мишень» использовался молекулярный докинг, а также моделирование количественных зависимостей между структурой и активностью (QSAR, от англ. Quantitative Structure-Activity Relationship).

Следует отметить, что использованные в данном диссертационном исследовании методы полностью соответствовали поставленным задачам и позволили успешно решить их.

Глава «Результаты» включает несколько подразделов, которые содержат подробное описание отдельных этапов проведённого исследования, а также их обсуждение с учётом имеющихся на настоящий момент литературных данных. Основопологающей задачей работы было совершенствование системы биологического тестирования химических соединений для поиска как противоопухолевых, так и нейропротекторных агентов. Усовершенствованный подход можно разделить на 5 этапов: ранний скрининговый этап, аналитический этап, этап определения влияния соединений на выживаемость клеточных культур, этапы специфической активности *in vitro* и *in vivo*. Особенностью раннего скринингового этапа является принцип объединения мишеней действующего вещества для нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Таким образом, по итогам реализации данного этапа автору удалось получить максимально возможную полноту информации о потенциальных нейропротекторных или противоопухолевых агентах.

В следующей части главы «Результаты» автор представляет данные, полученные в рамках *in vitro* и *in vivo* исследований эффективности соединений на основе природных скаффолдов и гидроксамовых кислот с целью выявления соединений-лидеров с нейтропротекторными или противоопухолевыми свойствами.

Заключительным этапом данной главы стало составление и хемоинформационный анализ аннотированной базы данных, содержащей комплексную информацию о физико-химических и биологических свойствах тестируемых соединений. Автором описываются разработанные и валидированные QSAR-модели (одна классификационная и две регрессионные), обученные на наборе данных, полученных из аннотированной базы. Использование этих моделей поиска и прогнозирования паттернов влияния молекулярных объектов на биохимические каскады ранних стадий развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний на основе анализа информационной матрицы с применением алгоритмов искусственного интеллекта в будущем позволит выявлять общие закономерности «структура-свойство» и рационально проектировать потенциально активные лекарственные молекулы. Каждая из моделей, описанная в данном разделе, позволяла быстро и эффективно прогнозировать, например, антиоксидантное действие новых соединений с точностью, вполне достаточной для практического применения на исследовательском этапе разработки новых веществ.

Следует отметить и качественный иллюстративный материал диссертации: яркие и четкие фотографии, хорошо продуманные и тщательно выполненные рисунки существенно облегчают понимание полученных данных.

В разделе «Заключение» автор кратко анализирует полученные теоретические и практические результаты в целом, отмечает наиболее важные из них, предлагает пути и перспективы их развития и применения.

Сформулированные диссертантом выводы, основанные на результатах многочисленных экспериментов, научно обоснованы и соответствуют её задачам.

Таким образом, по своей структуре диссертационная работа Негановой М.Е. выглядит логически выверенной и не позволяет усомниться в убедительности выдвигаемых автором заключений. Следует отметить чёткость и последовательность подходов в реализации поставленных задач, позволивших диссертанту эффективно их решить и достичь поставленной цели исследования.

Автореферат наглядно отражает результаты диссертации, а его оформление полностью соответствует требованиям ВАК.

#### **Общие вопросы и замечания по работе**

Среди замечаний по диссертации Негановой М.Е. следует отметить:

1. Небольшие недочёты с использованием пробелов между рисунками и абзацами. В некоторых случаях автор использует некорректный межстрочный интервал. Имеется ряд мелких опечаток и стилистических недочетов.

2. Некоторые рисунки содержат избыточную информацию, что приводит к усложнению восприятия материала.

Вопросы:

1. Будет ли доступна для других исследователей аннотированная база, составленная в ходе данной работы и модели виртуального скрининга?

2. Почему в качестве характеристик влияния соединений на митохондрии были выбраны мембранный потенциал и набухание? И связаны ли эти функции органелл между собой?

3. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов является весьма широким понятием и включает в себя многочисленные процессы, связанные с изменением конформации ДНК, РНК и белков гистонов. Почему автор работы сконцентрировал своё внимание именно на изучении работы гистоновых деацетилаз?

4. По какой причине автор не использует вещество сравнения при исследовании антипаркинсонического действия эпоксидиола в экспериментах *in vivo*? И почему в экспериментах на лабораторных животных нет группы мышей, получавших монотерпеновый диол для сравнения, как это приводилось в *in vitro* части работы?

Вместе с тем, высказанные замечания не имеют принципиального характера и не затрагивают сути полученных научных результатов. Все исследования выполнены соискателем на современном высоком методическом уровне, основные положения и выводы аргументированы и являются логическим завершением представленной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Негановой маргариты Евгеньевны на тему «Рациональный подход к поиску лекарственных агентов на основе взаимосвязи биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний», представленная на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки), является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющее важное значение для решения стратегически важной задачи государственной политики в сфере отечественного здравоохранения - развития и расширения доступности современных медицинских технологий за счёт получения перспективных кандидатов в лекарственные препараты. По объёму, степени

достоверности результатов исследования, научной новизне, изложению материала диссертационная работа соответствует требованиям п.9-11,13,14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденная постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор, Неганова Маргарита Евгеньевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия (биологические науки).

Официальный оппонент:

Торопова Яна Геннадьевна

доктор биологических наук по специальности 3.3.3 - Патологическая физиология, заместитель директора по научной работе Института экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры патологической физиологии лечебного факультета Института медицинского образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

11.04.2024

Подпись Тороповой Яны Геннадьевны

УДОСТОВЕРЯЮ

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

Контактные данные:

Телефон: 8-981-956-48-00

E-mail: [yana.toropova@mail.ru](mailto:yana.toropova@mail.ru)

Адрес места работы:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, 194156, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2А, <http://www.almazovcentre.ru/>; [fmrc@almazovcentre.ru](mailto:fmrc@almazovcentre.ru); +7 (812) 702-51-68

Согласна на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе Негановой Маргариты Евгеньевны «Рациональный подход к поиску лекарственных агентов на основе взаимосвязи биохимических механизмов патогенеза нейродегенеративных и онкологических заболеваний», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки).



Недошивин Александр  
Олегович