

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктор медицинских наук, профессора Новикова Сергея Николаевича
на диссертационную работу Боденко Виталины Васильевны
«Разработка таргетного конъюгата на основе каркасного белка и
цитотоксина для терапии HER2-экспрессирующих опухолей»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальностям 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология и 3.1.6.
Онкология, лучевая терапия

Актуальность темы диссертационного исследования

HER2-позитивные злокачественные новообразования остаются одной из наиболее актуальных проблем современной клинической онкологии, что обусловлено их широкой распространённостью среди различных локализаций, агрессивным биологическим фенотипом и высоким риском метастазирования. Несмотря на внедрение в клиническую практику таргетных препаратов, включая моноклональные антитела и конъюгаты антител с цитотоксическими агентами, значительная часть пациентов сталкивается с развитием первичной или приобретённой резистентности, а также с токсическими эффектами терапии, что определяет необходимость разработки новых эффективных и безопасных лекарственных средств для HER2-направленного лечения.

В связи с этим поиск альтернативных нацеливающих молекул, в частности высокоаффинных каркасных белков аффибоди, представляет собой перспективное направление. Молекулы аффибоди, меченные радиоактивными изотопами для целей молекулярной визуализации, уже успешно прошли клиническую апробацию в исследованиях I и II фазы, продемонстрировав впечатляющую способность нацеливания на HER2-экспрессирующие опухоли и их метастазы, высокую контрастность изображений и благоприятный профиль безопасности. Успешное применение аффибоди в диагностике создаёт прочную основу для перехода к терапевтическому использованию

данных молекул. Высокая распространенность HER2-позитивных опухолей (рак молочной железы, желудка, яичников, эндометрия и др.) в сочетании с их агрессивным фенотипом обуславливает безусловную актуальность диссертационного исследования, направленного на создание и всестороннюю доклиническую оценку нового таргетного конъюгата на основе аффибоди и цитотоксического агента.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационной работы является несомненной. На сегодняшний день в клинической практике отсутствуют препараты таргетных терапевтических конъюгатов на основе каркасного белка аффибоди и, что принципиально важно, препараты данного класса на сегодняшний день не достигли стадии клинических исследований. Отсутствие в мировой практике утверждённых протоколов применения терапевтических конъюгатов на основе аффибоди определяет абсолютную новизну исследований диссертационной работы и её значительный вклад в развитие фармакологии и онкологии. В представленной диссертационной работе впервые разработана и охарактеризована линейка HER2-направленных терапевтических конъюгатов на основе каркасного белка аффибоди Z_{HER2:2891}, включающих в свой состав полипептиды ABD, PAS или XTEN для увеличения периода полувыведения, цитотоксические агенты DM1, MMAE или MMAF с использованием междоменных глицин-сериновых линкеров. Для разработанных конъюгатов впервые определена функциональная пригодность *in vitro* на HER2-экспрессирующих клеточных линиях. Впервые изучены фармакокинетические свойства *in vivo* новых разработанных конъюгатов. Показано, что аминокислотные линкеры с повторами серина (G₃S)₃ и (S₃G)₃ значительно снижают накопление разработанных конъюгатов в печени, по сравнению с коротким линкером G₄S. Впервые для аффибоди применены стратегии увеличения периода полувыведения с использованием неструктурированных полипептидов XTEN и PAS. Для исследуемых конъюгатов впервые

установлены таргетные свойства *in vivo* в HER2-экспрессирующих ксенографтах опухоли аденокарциномы яичников SKOV3 в сравнении с HER2-негативными ксенотрансплантатами опухоли Ramos. Особую научную ценность представляют впервые полученные данные о терапевтической эффективности конъюгатов Z_{HER2} -G₄S-ABD-MMAF и Z_{HER2} -G₄S-ABD-DM1 на модели HER2-экспрессирующих ксенографтов аденокарциномы яичников SKOV3 с достижением полной ремиссии у 50 % животных и недостигнутой медианой выживаемости в течение 90-дневного периода наблюдения, что свидетельствует о выраженном противоопухолевом действии и открывает перспективы для дальнейшего доклинического и клинического изучения данного соединения как первого представителя нового класса терапевтических агентов.

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием широкого спектра современных методов исследования, полностью соответствующих поставленным задачам. Методологический подход автора характеризуется комплексностью и включает исследования *in vitro* и *in vivo* на HER2-позитивных моделях опухолевого роста.

Достоверность полученных результатов обеспечивается репрезентативным объемом экспериментальных данных, использованием положительных и отрицательных контрольных конструкций, а также применением адекватных методов статистической обработки. Выводы диссертации логически вытекают из представленных экспериментальных данных и сформулированы четко, аргументированно и соответствуют поставленным задачам.

Апробация результатов проведена на высоком уровне – основные результаты диссертации были представлены и обсуждались на ряде

всероссийских и международных научных конференций. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 7 тезисов в материалах научных конференций.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа имеет классическую структуру научного исследования, изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав (обзора литературы, описание материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения), заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 54 рисунками, которые наглядно демонстрируют полученные результаты и динамику экспериментальных процессов. Список литературы содержит 210 источников, в том числе 9 отечественных и 201 зарубежных публикаций, что свидетельствует о широкой информированности автора о современном состоянии изучаемой проблемы.

Структура работы логична и последовательна. Во введении четко обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту. Во введении убедительно обоснована актуальность темы исследования, четко определена научная проблема, на решение которой направлено исследование.

Первая глава представляет собой глубокий анализ современных данных об онкогенной роли рецептора HER2, существующих подходах таргетной HER2-направленной терапии, преимуществах и ограничениях применения моноклональных антител в качестве молекул-носителей, а также перспективах использования каркасных белков аффибоди в качестве нацеливающих молекул и способах повышения эффективности и безопасности их применения.

Вторая глава описывает использованный комплекс современных экспериментальных подходов *in vitro* и *in vivo*, включая экспрессию и очистку слитых белков, конъюгацию с цитотоксическими агентами, методы оценки качества конъюгатов, радиомечение технецием-99m, оценку цитотоксичности, специфичности связывания, аффинности и интернализации, а также дизайн экспериментов по биораспределению исследуемых конъюгатов и экспериментальной терапии *in vivo*.

Третья глава представляет результаты собственных исследований и их обсуждение, структурированные по группам исследуемых конъюгатов: с различным составом междоменных линкеров, с разными полипептидными фрагментами для увеличения периода полувыведения и с разными цитотоксическими агентами. Автором показано, что все разработанные конъюгаты имеют высокую чистоту (свыше 95 %), характеризуются HER2-опосредованным специфичным связыванием с высоким сродством к мишени (в субнанолярном и нанолярном диапазонах), медленной интернализацией и выраженной цитотоксичностью в нанолярном диапазоне концентраций. Наиболее высокую цитотоксическую активность проявил конъюгат Z_{HER2}-G₄S-ABD-MMAF. В исследованиях *in vivo* установлен преимущественно почечный клиренс всех конъюгатов. Показано, что использование линкеров с повторами серина значительно снижает поглощение печенью по сравнению с коротким линкером G₄S. Сравнительный анализ полипептидов, увеличивающих период полувыведения, выявил, что полипептиды XTEN576 и PAS600 значительно увеличивают время удержания в крови, однако ABD обеспечивает наилучшие соотношения активности «опухоль-орган». Среди цитотоксических агентов MMAF в составе конъюгата специфичность и терапевтическую эффективность. Экспериментальная терапия на мышах с ксенографтами SKOV3 показала, что Z_{HER2}-G₄S-ABD-MMAF в дозе 2,9 мг/кг значительно ингибирует рост опухоли, обеспечивает недостигнутую медиану выживаемости в течение 90 дней и полную ремиссию

у 50 % животных, при этом не вызывает выраженной токсичности (отсутствие потери массы тела и патологических изменений в печени и почках). Эффективность $Z_{HER2}\text{-G}_4\text{S-ABD-MMAF}$ достоверно превышала эффективность конъюгата с DM1 (медиана выживаемости 57 дней, полная ремиссия у 20 % мышей).

В заключении обобщены результаты исследования, подтверждающие, что разработанные HER2-направленные конъюгаты на основе аффибоди являются перспективным классом соединений для таргетной терапии HER2-экспрессирующих опухолей. Все главы диссертации логически связаны между собой, а выводы полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Результаты диссертационной работы имеют высокую теоретическую и практическую значимость. Теоретическая значимость работы определяется систематическим изучением взаимосвязи между структурными компонентами таргетного конъюгата на основе аффибоди и его биологическими свойствами. Автором впервые в едином экспериментальном дизайне проведён комплексный сравнительный анализ влияния трёх ключевых структурных параметров – типа междоменного линкера, полипептидного фрагмента для пролонгации времени циркуляции и цитотоксического агента – на аффинность, специфичность связывания, интернализацию, цитотоксическую активность *in vitro*, а также биораспределение, фармакокинетику и таргетное накопление *in vivo*. Установленные закономерности расширяют фундаментальные представления о дизайне конъюгатов на основе малых каркасных белков и создают основу для рациональной разработки терапевтических агентов данного класса.

Практическая значимость работы заключается в разработке новых HER2-направленных терапевтических конъюгатов, показавших высокую противоопухолевую эффективность в доклинических исследованиях *in*

и *in vivo*. Наиболее перспективный конъюгат Z_{HER2}-G₄S-ABD-MMAF продемонстрировал выраженный противоопухолевый эффект на модели ксенографтов аденокарциномы яичников SKOV3 с достижением полной ремиссии у 50 % животных и недостигнутой медианой выживаемости в течение 90-дневного периода наблюдения, при отсутствии значимой токсичности. Полученные результаты создают предпосылки для его последующего клинического применения для терапии HER2-экспрессирующих видов рака.

Практическая значимость работы подтверждается апробацией полученных результатов в рецензируемых научных журналах высокого уровня, входящих в международные базы данных Scopus и Web of Science. Разработанные подходы и полученные данные могут быть использованы в научно-исследовательских и образовательных учреждениях при проведении доклинических исследований таргетных препаратов, а также в учебном процессе при подготовке специалистов в области фармакологии и онкологии.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки России, правильно структурирован и полностью отражает цель, задачи, методы исследования, основное содержание работы, выводы и заключение, изложенные в диссертации.

Замечания и вопросы к диссертации

По работе принципиальных замечаний нет, однако, в плане дискуссии прошу ответить на ряд возникших вопросов:

В диссертационной работе указано, что MMAF является гидрофильным и плохо проникает через клеточные мембраны (в отличие от MMAE). Это его ключевое преимущество по снижению токсичности, но одновременно и недостаток, так как он не убивает соседние HER2-негативные клетки в

гетерогенной опухоли. Считаете ли Вы, что на модели SKOV3, которая, как правило, относительно гомогенна по HER2, мы получаем завышенный результат? Каковы, на Ваш взгляд, перспективы этого конъюгата при лечении

2. Рассматриваете ли вы возможность комбинированной терапии и возможность синергизма Вашего конъюгата с другими HER2-направленными препаратами?

Заключение

Диссертационная работа Боденко Виталины Васильевны на тему «Разработка таргетного конъюгата на основе каркасного белка и цитотоксина для терапии HER2-экспрессирующих опухолей», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научная задача – разработка и доклиническая оценка новых HER2-направленных таргетных конъюгатов на основе каркасного белка аффибоди, имеющая важное теоретическое и практическое значение для фундаментальной и клинической фармакологии и онкологии.

Работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием современных экспериментальных подходов. По объему проведенных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов и их достоверности диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 № 1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Боденко Виталина Васильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата

биологических наук по специальностям 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

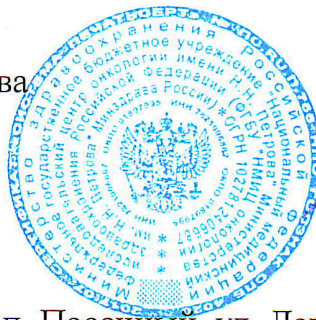
Официальный оппонент:

Заведующий научным отделением
радиационной онкологии и ядерной
медицины Федерального
государственного бюджетного
учреждения «Национальный
медицинский исследовательский
центр онкологии имени Н.Н.
Петрова» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации, доктор медицинских
наук, профессор

12.08.2026г.

Новиков Сергей Николаевич

Подпись Новикова С.Н. заверяю
Ученый секретарь ФГБУ
«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, д.м.н.



А.О. Иванцов

А.О. Иванцов

Адрес: 197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68

Тел.: 8(812) 43-99-555

Электронная почта: center.petrova@niioncologii.ru