

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01, СОЗДАННОГО
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «19» октября 2023 г., № 29

О присуждении Осиповой Алене Валерьевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Ингибирование REDD1 как новый подход к повышению эффективности и безопасности глюкокортикоидной терапии злокачественных новообразований кроветворной системы» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия принята к защите 29 июня 2023 года (протокол заседания № 18) диссертационным советом 21.1.032.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, приказ о создании диссертационного совета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012 г., №561/нк от 03.06.2021 г..

Соискатель Осипова Алена Валерьевна, «27» марта 1992 года рождения.

В 2014 году окончила бакалавриат федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова» по специальности «Химическая технология и биотехнология».

В 2016 году окончила магистратуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский технологический университет» по специальности «Биотехнология».

Работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза научно-исследовательского института (НИИ) канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза научно-исследовательского института (НИИ) канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Научный руководитель - доктор биологических наук, доцент Лесовая Екатерина Андреевна, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ канцерогенеза, лаборатория механизмов гибели опухолевых клеток, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Григорьева Эльвира Витальевна, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», лаборатория гликобиологии, главный научный сотрудник, руководитель;

Жданов Дмитрий Дмитриевич, доктор биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», лаборатория медицинской биотехнологии, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Сергеевой Натальей Сергеевной, доктором

биологических наук, профессором, отделение прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института имени А.П. Герцена, заведующая, указала, что диссертационная работа Осиповой Алены Валерьевны является завершённой, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной проблемы в онкологии – снижения степени развития побочных эффектов глюкокортикоидов. Диссертационная работа посвящена теме, имеющей значимость не только с научной точки зрения, но и для клинической практики, и полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. №748, 29.05.2017 г. №650, 28.08.2027 г. №1024, 01.10.2018 г. №1168, от 20 марта 2021 года №426, от 11.09.2021 г. №1539, 18.03.2023 г. №415), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 9 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ.

В опубликованных работах отражены основные результаты по изучению модификации функции рецептора глюкокортикоидов и роли REDD1, вовлеченного в механизм развития побочных эффектов при длительной терапии глюкокортикоидами. Показана роль ингибиторов экспрессии гена *REDD1* в смещении функции рецептора глюкокортикоидов в сторону терапевтически важного механизма – транс-репрессии, продемонстрирована эффективность подавления экспрессии гена *REDD1* для увеличения противоопухолевого потенциала глюкокортикоидов и ингибирования развития их побочных эффектов,

а также проведен сравнительный анализ применения комбинации дексаметазона и ингибиторов *REDD1* с индивидуальным применением глюкокортикоидов.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 75 %, объем научных изданий составляет 1,67 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Lesovaya, E.A. A novel approach to safer glucocorticoid receptor-targeted anti-lymphoma therapy via REDD1 (Regulated in Development and DNA Damage 1) inhibition / E.A. Lesovaya, **A.V. Osipova**, O.V. Morozova, E.S. Lylova, E.M. Zhidkova, E.P. Kulikov, K.I. Kirsanov, A. Klotot, G. Baida, M.G. Yakubovskaya, L.I. Gordon, B. Readhead, J.T. Dudley, I. Budunova // *Molecular Cancer Therapeutics*. — 2020. — Vol.19. — №9. — P. 1898-1908.

2. Zhidkova, E.M. Nutritional sensor REDD1 in cancer and inflammation: friend or foe? / E.M. Zhidkova, E.S. Lylova, D.D. Grigoreva, K.I. Kirsanov, **A.V. Osipova**, E.P. Kulikov, S.A. Mertsalov, G.A. Belitsky, I. Budunova, M.G. Yakubovskaya, E.A. Lesovaya // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — Vol.23. — №17. — P. 9686-9699.

3. Zhidkova, E.M. A brief overview of the paradoxical role of glucocorticoids in breast cancer / E.M. Zhidkova, E.S. Lylova, **A.V. Savinkova**, S.A. Mertsalov, K.I. Kirsanov, G.A. Belitsky, M.G. Yakubovskaya, E.A. Lesovaya // *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*. — 2020. — Vol.2. — P. 1-6.

4. **Савинкова, А.В.** Противоопухолевый эффект энантиомеров *SpdA* in vitro на модели острого лимфобластного лейкоза / А.В. Савинкова, Л.Р. Тилова, О.И. Борисова, Е.М. Жидкова, К.А. Кузин, К.И. Кирсанов, Г.А. Белицкий, И.В. Будунова, М.Г. Якубовская, Е.А. Лесовая // *Российский биотерапевтический журнал*. — 2017. — Т. 16. — №1. — С. 61-69.

5. Тилова, Л.Р. Синтез нового селективного агониста глюкокортикоидного рецептора и оценка его противоопухолевой активности на модели гемобластозов *in vitro* / Л.Р. Тилова, **А.В. Савинкова**, А.К. Бочаров, К.А. Кузин, О.И. Борисова, Е.М. Жидкова, К.И. Кирсанов, Г.А. Белицкий, М.Г. Якубовская, Л.В. Яминова, В.З. Ширинян, Е.А. Лесовая // Современные проблемы науки и образования. (Электронный журнал). — 2016. — №6. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25648>

На диссертацию и автореферат поступил отзыв из:

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва. Отзыв подписан Кузнецовой Екатериной Борисовной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории эпигенетики. В отзыве указано, что диссертация Осиповой А.В. является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, в которой осуществлено решение актуальной научной проблемы – продемонстрирован новый способ для снижения побочного действия глюкокортикоида дексаметазона при терапии лейкозов и лимфом, имеющий важное значение для фундаментальной онкологии. Диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия;

федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, г. Москва. Отзыв подписан Наседкиной Татьяной Васильевной, доктором биологических наук, профессором, ведущим научным сотрудником лаборатории

биологических микрочипов. В отзыве указано, что теоретическое и практическое значение диссертационной работы Осиповой Алены Валерьевны «Ингибирование REDD1 как новый подход к повышению эффективности и безопасности глюкокортикоидной терапии злокачественных новообразований кроветворной системы» не вызывает сомнений, и она является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача современной онкологии: предложен новый метод совершенствования глюкокортикоидной терапии онкогематологических заболеваний путем применения ингибиторов *REDD1* с целью предотвращения осложнений, развивающихся при длительном применении глюкокортикоидов. По актуальности, научной новизне, методическому уровню, глубине проведенного анализа и корректности выводов работа полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Григорьева Эльвира Витальевна, доктор биологических наук, и Жданов Дмитрий Дмитриевич, доктор биологических наук, доцент, выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, являющихся экспертами по специальности диссертации, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.

Ведущая организация, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области клинической онкологии,

способный определить научную и практическую ценность диссертации, и имеющий ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан новый способ подавления развития побочных эффектов глюкокортикоидов путем совместного применения ингибиторов экспрессии *REDD1*. Исследованные соединения потенциально могут быть применены в клинической практике для увеличения эффективности и снижения риска возникновения токсических эффектов комбинированной химиотерапии злокачественных новообразований системы крови;

предложено рассматривать ингибиторы сигнального пути PI3K/Akt/mTOR – вортманнин, LY294002 и AZD8055 в качестве ингибиторов экспрессии гена *REDD1*, отобранных с помощью биоинформатического поиска на основании исследований по изменению транскриптома опухолевых клеток при действии разрешенных лекарственных препаратов из базы данных Library of Integrated Cellular Signatures (LINCS);

доказана эффективность рассматриваемого в работе подхода к предотвращению атрофических эффектов, обусловленных хроническим системным действием глюкокортикоидов;

введены в рутинную практику отдела химического канцерогенеза методы исследования системного воздействия ингибиторов экспрессии *REDD1* на глюкокортикоид-индуцированные атрофические эффекты – остеопороз и истончение кожного покрова.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в расширение фундаментальных представлений о влиянии ингибиторов *REDD1* на функционирование рецептора

глюкокортикоидов и о противоопухолевой активности комбинации ингибиторов экспрессии *REDD1* и глюкокортикоидов.

Применительно к проблематике диссертации результативно **использованы** современные физико-химические и молекулярно-биологические методы исследования *in vitro* и *in vivo*.

изложены убедительные данные, свидетельствующие об эффективности применения комбинации глюкокортикоидов и препаратов, подавляющих экспрессию *REDD1*, которые не снижают или увеличивают эффективность противоопухолевой терапии злокачественных новообразований системы крови, а также подавляют возникновение глюкокортикоид-индуцированных метаболических осложнений;

раскрыты новые данные, подтверждающие синергическую противоопухолевую активность ингибитора *REDD1* – LY294002 и глюкокортикоида дексаметазона в отношении перевиваемой мантийно-клеточной лимфомы Granta-519.

в диссертационной работе с использованием различных методов **изучены** эффекты, оказываемые ингибиторами экспрессии *REDD1* на функционирование рецептора глюкокортикоидов;

проведена модернизация алгоритма валидации данных по ингибированию экспрессии *REDD1*, полученных из доступных репозиторий, с помощью молекулярно-биологических методов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Разработаны и внедрены в практическую деятельность ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России методики по исследованию подходов к повышению эффективности и безопасности терапии злокачественных новообразований кроветворной системы с использованием ингибиторов экспрессии гена *REDD1*;

определены перспективы применения в клинической практике полученных результатов для модифицирования схемы лечения пациентов, страдающих злокачественными новообразованиями системы крови;

создана стратегия оптимизации протокола комбинированной терапии злокачественных новообразований системы крови;

представлены предложения по добавлению в протокол комбинированной терапии ингибиторов экспрессии *REDD1* с целью повышения терапевтической эффективности и снижения риска развития побочных эффектов глюкокортикоидов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Работа выполнена на высоком методологическом уровне и основывается на большом экспериментальном материале, полученном с использованием широкого диапазона методов *in vitro* и *in vivo*. Примененные методики соответствуют цели и задачам исследования;

теория построена на известных проверенных данных отечественных и зарубежных литературных источников, согласно которым длительная терапия злокачественных гематологических новообразований с использованием глюкокортикоидов значительно осложнена возникновением различных осложнений, ухудшающих качество жизни пациентов и требующих проведения профилактических мер;

идея представленного исследования базируется на анализе результатов наиболее значимых работ по данной тематике, свидетельствующих о влиянии изменения экспрессии гена *REDD1* на патогенез различных заболеваний, в том числе кожную и мышечную атрофию, остеопороз;

использованы данные мировой литературы по анализу влияния повышения экспрессионного профиля *REDD1* на развитие как онкологических, так и неонкологических заболеваний. В соответствии с этими данными ген *REDD1* может стать новой терапевтической мишенью для целого ряда злокачественных

новообразований, а также для ряда атрофических, воспалительных и других заболеваний;

установлено, что предложенный соискателем подход, основанный на совместном применении ингибиторов экспрессии *REDD1* и глюкокортикоидов имеет ряд преимуществ, заключающихся в протективном действии ингибитор по отношению к атрофогенным эффектам стероидов, а также в увеличении эффективности проводимой терапии за счет синергического противоопухолевого действия;

в работе **использованы** комплексный и системный подход с использованием современных методов молекулярной биологии. В качестве модельной системы *in vitro* в представленном исследовании были использованы клетки линии Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза СЕМ и В-клеточной мантийноклеточной лимфомы Granta-519. Для оценки системных побочных эффектов глюкокортикоидов *in vivo* была использована модель глюкокортикоид-индуцированной атрофии костной и кожной ткани. Для оценки противоопухолевой активности *in vivo* была использована модель ксенографтов лимфомы у бестимусных мышей. В представленном исследовании были применены методы проточной цитофлуориметрии, определения цитотоксического эффектов путем прямого подсчета клеток в камере Горяева, МТТ-тест, количественный ПЦР-анализ, вестерн-блоттинг, люциферазный репортерный анализ, иммуногистохимия. Результаты экспериментов указаны в виде среднего значения со стандартным отклонением. Статистическую обработку данных проводили с использованием коммерческого пакета программ GrafPad Prism v.9.1.1 (GraphPad Software, США). Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и критерия Шапиро-Уилка. Также были использованы t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна-Уитни, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Личный вклад соискателя состоит в: планировании всех этапов диссертационной работы, проведении анализа отечественной и зарубежной

литературы по данной научной тематике, личном проведении и анализе результатов экспериментов, интерпретации результатов и формулировании выводов, апробации и публикации результатов исследования.

Соискатель Осипова Алена Валерьевна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании «19» октября 2023 года диссертационный совет принял решение: за решение актуальной научной задачи – исследован новый способ предотвращения атрофических эффектов, вызванных хроническим системным лечением глюкокортикоидами, имеющей значение для развития онкологии, присудить Осиповой Алене Валерьевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия «биологические науки», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 17, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председательствующий
диссертационного совета,
д.б.н., профессор

Красильников М.А.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.м.н., профессор



19 октября 2023 г.