

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, главного научного сотрудника, руководителя лаборатории гликобиологии ФГБНУ «ФИЦ ФТМ» Григорьевой Эльвиры Витальевны на диссертационную работу Осиповой Алены Валерьевны на тему «Ингибирование REDD1 как новый подход к повышению эффективности и безопасности глюкокортикоидной терапии злокачественных новообразований кроветворной системы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

### Актуальность темы исследования

В современной медицинской практике, в частности, онкологии, особое место занимают препараты глюкокортикоидного ряда. Благодаря разнообразным фармакологическим эффектам лекарственные средства данной группы используют не только при различных неонкологических заболеваниях, но и в протоколах комбинированной терапии гематологических злокачественных новообразований, а также в терапии солидных опухолей в качестве вспомогательного средства. Применение высоких доз глюкокортикоидов (ГК) обеспечивает эффективное подавление злокачественных бластных клеток в острой фазе заболевания, однако при длительном применении приводит к развитию серьезных метаболических осложнений. В настоящее время проблема развития побочных эффектов ГК по-прежнему остается нерешенной.

Перспективным подходом для решения данной проблемы является комплексная терапия, при которой применение ГК сочетается с ингибиторами экспрессии ГК-зависимых генов, вовлеченных в развитие побочных эффектов. Известно, что одним из механизмов, обуславливающих атрофогенное действие ГК, является повышение экспрессионного профиля стероид-индуцированного гена *REDD1*. Фармакологические ингибиторы *REDD1* ранее в литературе описаны не были и поиск и исследование эффектов таких ингибиторов на функционирование глюкокортикоидного рецептора (ГР) (в качестве средства для подавления атрофогенного действия ГК) является актуальной задачей современной экспериментальной онкологии, представляющей как теоретический научный интерес, так и имеющей практическое значение.

## Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа оформлена в традиционной форме: состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения результатов, заключения и списка литературы. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, содержит 33 рисунка, 4 таблицы и ссылки на 235 отечественных и зарубежных литературных источников.

Во введении автор раскрывает актуальность темы диссертационной работы, четко формулирует цель и задачи исследования, отражает научную новизну и научно-практическую значимость работы.

В Обзоре литературы (Глава 1) автором рассмотрены этиология гематологических злокачественных новообразований, а также нарушение сигнальных путей при этих заболеваниях, подробно описаны механизм действия ГК, а также их роль в терапии и возникновении побочных эффектов. Особое внимание в данной главе уделено рассмотрению влияния гена *REDD1* на патогенез различных заболеваний и его механизму действия. Обзор написан очень логично и четко и свидетельствует о глубоком понимании автором этой области научных исследований.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описаны подходы и методы, использованные для решения поставленных задач. Автор использовал широкий спектр современных методов исследования, включая ПЦР в реальном времени, проточную цитофлуориметрию, иммуноблоттинг, методы работы с суспензионными культурами опухолевых клеток, трансдукцию клеток лентивирусными векторами, люциферазный репортерный анализ и др. методы.

Глава 3 «Результаты исследования» посвящена результатам проведенных исследований и содержит 4 основных раздела. Первый и второй разделы посвящен анализу данных биоинформатического поиска потенциальных ингибиторов гена *REDD1*, отборусоединений для дальнейшего экспериментального исследования (вортманнин (WM), LY294002, AZD8055) и подбору оптимальных рабочих концентраций для исследуемых ингибиторов. В третьем разделе автором на клеточных моделях была проведена оценка влияния выбранных соединений на уровень экспрессии *REDD1* и было показано, что *REDD1* является ГК-зависимым геном. Также проанализировано влияние ингибиторов на сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR и функциональную активность ГР: отобранные соединения ингибировали сигнальный

путь PI3K/Akt/mTOR, о чем свидетельствовало снижение фосфорилирования 4E-BP1 и Akt, а также предотвращали дексаметазон-индуцированное фосфорилирование ГР. И, наконец, автору удалось продемонстрировать, что совместное применение дексаметазона и ингибиторов *REDD1* смещает эффекты в сторону терапевтически необходимого механизма транс-репрессии (при этом подавляя механизм, вовлеченный в процесс возникновения побочных эффектов – транс-активацию), а также что такая комбинация препаратов обладает более выраженными антипролиферативным и проапоптотическим эффектами. Для дальнейшего проведения экспериментов на мышинных моделях автором было выбрано наиболее перспективное соединение – LY294002. Для комбинации дексаметазона и LY294002 был показан синергизм в противоопухолевом действии, а также подавление системных атрофических эффектов ГК, о чем свидетельствовало снижение экспрессионного профиля молекулярных маркеров развития остеопороза и степени атрофии кожного покрова.

В главе 4 «Обсуждение результатов» содержится анализ полученных данных, в которых автор последовательно аргументирует результаты собственных исследований и логично сопоставляет их с данными, опубликованными в мировой литературе. Полученные данные свидетельствуют о перспективности данного направления исследования.

В разделе "Заключение" автор коротко описывает актуальность данного направления исследований и новый подход к решению проблемы преодоления побочных эффектов ГК, который и лег в основу данной работы.

Выводы отражают основные результаты, полученные в ходе выполнения данного исследования.

#### **Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне, с применением современных молекулярно-биологических методов. Текст диссертации написан языком, легким для понимания биологам и медикам различных специальностей, результаты работы представлены в логичной форме, хорошо структурированы по разделам. Объем исследований позволил получить научные результаты, достаточные для формулирования и обоснования представленных выводов.

## Достоверность и новизна научных положений и выводов

Диссертационная работа Осиповой А.В. выполнена на высоком профессиональном уровне, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и базируется на корректном использовании современных молекулярно-биологических методов лабораторных исследований и грамотно проведенной статистической обработке результатов, а также подтверждается их сопоставлением с имеющимися в литературе данными. Методическая база соответствует поставленной цели и задачам исследования.

В представленной диссертационной работе автором впервые были изучены биологические эффекты ингибиторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR вортманнина, LY294002 и AZD8055 в качестве ингибиторов атрофогена *REDD1* на моделях гемобластозов.

Автореферат полностью отражает структуру и основное содержание диссертационной работы. Результаты данного исследования представлены в 5 научных работах, опубликованных в российский и зарубежных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

В целом, диссертационная работа написана настолько хорошо и грамотно, что принципиальных замечаний к ней практически нет.

Немногочисленные технические замечания в основном относятся к оформлению работы или носят дискуссионный характер и не снижают ценности и важности представленного исследования:

1. для большинства рисунков вызывает удивление стиль подрисуночных подписей, в котором сначала идет упоминание панелей (А, Б...) и/или описание представленных данных и лишь затем через пробел "Рисунок X" и название рисунка (за исключением рисунков 1, 3, 5-7, 8).

2. в разделе "Обсуждение" автор очень коротко указывает, что полученные результаты "раскрывают новые направления исследований в области использования ГК..." - было бы интересно увидеть более подробное описание этих новых направлений.

## Заключение

Диссертационная работа Осиповой Алены Валерьевны «Ингибирование *REDD1* как новый подход к повышению эффективности и безопасности глюкокортикоидной

терапии злокачественных новообразований кроветворной системы» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение научной задачи – поиск и исследование нового подхода в комбинированной химиотерапии гематологических заболеваний для преодоления проблемы развития побочных реакций ГК с сохранением их терапевтических эффектов. По новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертация 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 ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

*Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России*

Главный научный сотрудник,  
руководитель лаборатории гликобиологии  
ФГБНУ «ФИЦ ФТМ»  
доктор биологических наук (03.03.04. – Клеточная биология, цитология,  
гистология, 03.01.07. – Молекулярная генетика)

Григорьева Эльвира Витальевна  
«29» сентября 2023 г.

Ученый секретарь  
ФГБНУ «ФИЦ ФТМ»  
доктор биологических наук



Пальчикова Наталья Александровна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»  
Адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова 2,  
+7 (383) 333-65-37  
E-mail: director@centercem.ru  
www: https://frcftm.ru

Подписи доктора биологических наук Григорьевой Э.В.  
и доктора биологических наук Пальчиковой Н.А. «Заверяю»

Личную подпись Григорьевой Э.В. заверяю  
Пальчиковой Н.А.  
специалист отдела кадров ФИЦ ФТМ  
"02" 10 2023 г. подпись Е.В. Венедиктова

