ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Боженко Владимира Константиновича на диссертационную работу Лесовой Екатерины Андреевны «Модулирование активации глюкокортикоидного рецептора в химиотерапии гемобластозов», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология

Актуальность темы

Глюкокортикоиды применяют в клинической и, в частности, вонкологической практике с 40-50-х годов прошлого века, однако, вопрос о возможности достижения значительного лечебного эффекта при минимуме осложнений до сих пор остается открытым, а его решение – актуальным с теоретической и прикладной точек зрения. Глюкокортикоидный рецептор - транскрипционный фактор, активирующийся в результате специфического связывания глюкокортикоидов, – первоначально пытались использовать в качестве молекулярного маркера чувствительности больных лимфопролиферативными заболеваниями, в первую очередь, острым лимфобластным лейкозом и лимфомой Ходжкина, к глюкоротикоидным препаратам с целью отсева нечувствительных пациентов и оптимизации назначаемых доз, однако этот подход оказался малоэффективным. Успехи в расшифровке молекулярных механизмов действия глюкокортикоидного рецептора на уровне регуляции транскрипции выявили плейтропность действия глюкокортикоидов, которую необходимо учитывать при планировании химиотерапии и выборе наиболее эффективного препарата, являющегося лигандом глюкокортикоидного рецептора.

Диссертационная работа Е.А. Лесовой посвящена поиску новых подходов к решению этой проблемы, а именно, анализу возможности направленной регуляции функциональной активности глюкокортикоидного рецептора при терапии злокачественных новообразований кроветворной системы. Автором

были выбраны два ключевых направления исследований: 1) использование селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора (SEGRA), которые избирательно запускают только механизм транс-репрессии, ответственный за реализацию терапевтического действия, и в значительно меньшей степени способствуют развитию глюкокортикоид-опосредованных побочных эффектов, часто связанных с процессом транс-активации; 2) поиск глюкокортикоид-зависимых генов, отвечающих за развитие осложнений, и подбор фармакологических ингибиторов для комбинированного применения с глюкокортикоидами. Зарегистрированных и введенных в клиническую практику SEGRA и фармакологических ингибиторов REDD1 в литературе не описано.

Учитывая все вышесказанное, диссертационная работа Лесовой Е.А., в которой проведен поиск возможных путей оптимизации химиотерапии злокачественных новообразований кроветворной системы, включающей в себя глюкокортикоиды как обязательный компонент, является безусловно актуальной, новой и имеет большое научно-практическое значение.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе Лесовой Е.А., обусловлена достаточным объемом исследований, обширной методической базой, включающей в себя различные виды химического синтеза, современные молекулярно-генетические, электрофоретические и иммунохимические исследования, использование широкого спектра моделей *in vitro* и *in vivo*, биоинформатический поиск, а также применением современных статистических прикладных программ для обработки данных. Полученных в результате экспериментальных исследований данных достаточно для формулирования представленных выводов.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

В работе использован широкий диапазон современных методов исследования, разнообразные эксперименты на клеточных культурах, биоинформационный поиск. Необходимо отметить продуманность в выборе моделей и методов, адекватных для каждой группы стоящих перед автором задач, что обеспечило надежность и достоверность полученных результатов, а также то, что такие масштабные исследования селективной активации рецептора глюкокортикоидов и возможностей ее использования для улучшения эффекта лечения лимфопролиферативных заболеваний проведено впервые. Полученные результаты подтверждают гипотезу о возможности специфической активации транс-репрессорной активности глюкокортикоидного рецептора с помощью соединений класса SEGRA или направленного ингибирования глюкокортикоид-зависимых генов, опосредующих развитие побочных эффектов.

Содержание и завершенность работы

Диссертационная работа написана по традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования, их обсуждения и выводов. Диссертация изложена на 304 страницах, содержит 15 таблиц и 61 рисунок. Список литературы включает 757 источников, из которых 20 — отечественные и 737 — зарубежные. Список цитируемой литературы, по-видимому, мог быть сокращен, без потери представленности авторов.

Во «Введении» достаточно четко освещены все требуемые позиции: обоснована актуальность и проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, адекватно оценены его новизна и практическая значимость.

Обзор литературы включает современные данные о механизмах действия глюкокортикоидов в организме и на молекулярном уровне, о структуре и функциях рецептора глюкокортикоидов, и, прежде всего, о двух основных

механизмах, определяющих его активность в клетках гемобластозов – транс-активаторном и транс-репрессорном, а также о влиянии глюкокортикоидного рецептора на сигнальные пути, нарушения в которых способствуют формированию злокачественных клонов и определяют основные свойства опухолевой клетки. Подробно описаны различные типы лигандов глюкокортикоидного рецептора и их особенности в регуляции механизмов его действия на опухолевые клетки, представлена информация о генах, определяющих развитие основных побочных эффектов глюкокортикоидов, соответствующих им белках и их функциональной активности. Представлены современные подходы к поиску препаратов для перепрофилирования в области онкологии, перечислены базы данных, на основе которых проводят в настоящее время биоинформационный скрининг соединений с заданной активностью, приведены примеры удачного перепрофилирования лекарственных препаратов. Обзор написан ясным, хорошим языком, логично обосновывает необходимость и новизну планируемых исследований.

В главе «Материалы и методы» очень подробно описаны все использованные методики, что еще раз подтверждает их адекватность поставленным задачам.

В разделе «Результаты исследования» последовательно представлены основные этапы исследования. 1. Изучение противоопухолевого действия соединения класса SEGRA - CpdA (синтетического аналога нестероидного соединения, выделенного из африканского кустарника семейства амарантовых, обладающего аффинностью к глюкокортикоидному рецептору), *in vitro* и *in vivo* индивидуально и в комбинации с цитостатическими препаратами, ингибиторами убиквитин-протеосомной системы, а также узкобороздочными лигандами. 2. Разработка стратегий синтеза аналогов CpdA и синтез 10 новых соединений – его энантиомеров и химических производных. 3. Скрининг биологических свойств синтезированных соединений, показавший, что антипролиферативное и проапоптотическое действие аналогов CpdA, их эффекты на индукцию транс-активации и транс-репрессии, а также аффинность

к глюкокортикоидному рецептору сопоставимы с эффектами синтетического глюкокортикоида дексаметазона и самого CpdA. Выделено наиболее активное производное CpdA-03, для которого был продемонстрирован противоопухолевый эффект *in vivo*. На основании результатов этой части исследования автор полагает, что CpdA-03 является перспективным для дальнейших доклинических испытаний в качестве потенциального препарата для терапии лимфопролиферативных заболеваний. 4. Биоинформационный скрининг базы данных CMap, в результате которого идентифицировано 9 потенциальных ингибиторов гена *REDD1*, ассоциированного с атрофическими явлениями после применения глюкокортикоидов, а также с остеопорозом. В проанализированных профилях экспрессии генов *REDD1* входил в 15% генов, наиболее сильно индуцируемых при действии гдюкокортикоидов. Среди вычисленных соединений, подавляющих активность *REDD1,* оказались ингибитор mTORC1 рапамицин, ингибитор mTORC1/mTORC2 OSI-027, а также модулятор холинорецепторов физостигмин. Наиболее активный ингибитор *REDD1* рапамицин подавлял базальную и глюкокортикоид-индуцированную экспрессию этого гена и модулировал функциональную активность глюкокортикоидного рецептора: снижал транслокацию рецептора в ядро и степень его фосфорилирования, а также запуск транс-активации, в то время как транс-репрессия была более выражена. Был продемонстрирован синергический противоопухолевый эффект рапамицина и глюкокортикоидов *in vitro* и *in vivo,* а также возможность подавления атрофических побочных эффектов хронического системного и локального действия глюкокортикоидов *in vivo*. Полученные в этой части работы данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения эффектов ингибиторов *REDD1* на глюкокортикоид-зависимые сигнальные пути, противоопухолевую активность глюкокортикоидов и вызываемые ими побочные эффекты. Все эти данные описаны очень подробно, иллюстрированы большим количеством рисунков и таблиц, и весьма убедительны.

Несомненным достоинством диссертации Е.А. Лесовой является огромный объем проделанной работы, продуманность в выборе моделей и методов исследования, тщательность и скрупулезность в обработке результатов. Обсуждение результатов, которое состоит из подразделов, соответствующих основным этапам проделанной работы, демонстрирует значение полученных результатов и их место в соответствующей области знаний.

Выводы логично вытекают из содержания диссертации, обоснованы и полностью соответствуют цели и задачам исследования. Автореферат по содержанию полностью соответствует диссертации.

Таким образом, в ходе работы автором получены результаты, не только вносящие значимый вклад в понимание фундаментальных механизмов регуляции активности рецептора глюкокортикоидов, но и способствующие развитию новых подходов к терапии исследуемых типов опухолей.

Заключение

Диссертационная работа Е.А Лесовой «Модулирование активации глюкокортикоидного рецептора в химиотерапии гемобластозов» является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение крупной научной проблемы в области изучения механизмов действия стероидных гормонов и возможностей направленного влияния на их активность: показано, что модулирование активности глюкокортикоидного рецептора при терапии гемобластозов путем использования селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора или на основе подавления экспрессии его эфферентных генов позволяет провести диссоциацию терапевтического и побочного действия глюкокортикоидов и повысить эффективность и безопасность химиотерапии злокачественных новообразований кроветворной системы.

В целом по своей актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, полученных на современном методологическом уровне, диссертационная работа Лесовой Е.А. соответствует требованиям «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 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Официальный оппонент
Доктор медицинских наук (14.01.12 – онкология),
профессор, заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России
Боженко Владимир Константинович

Подпись доктора медицинских наук, профессора Боженко В.К. заверяю

Ученый секретарь
ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Цаллагова Земфира Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России)
Адрес:
117997, Москва, ул. Профсоюзная, д.86,
Тел.: 8(495)333-41-80
E-mail: mailbox@rncrr.rssi.ru
www.rncrr.ru

«23» сентября 2019 г.