

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, заведующего лабораторией гликобиологии федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации Григорьевой Эльвиры Витальевны на диссертационную работу Жидковой Екатерины Михайловны на тему «Молекулярные механизмы действия новых селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора на клетки рака молочной железы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой достаточно гетерогенную группу злокачественных заболеваний, включающих несколько молекулярных подтипов. Тройной негативный подтип РМЖ, характеризующийся отсутствием специфических терапевтических мишеней, агрессивным течением и высоким риском метастазирования, выявляется у существенной доли пациенток (до 25% всех случаев). В связи с этим поиск новых подходов к повышению эффективности и безопасности терапии тройного негативного РМЖ остается очень актуальным.

Глюкокортикоиды являются неотъемлемой частью комбинированной терапии солидных опухолей, включая РМЖ. В тоже время литературные данные свидетельствуют о возможной роли глюкокортикоидного рецептора в процессе метастазирования РМЖ, поэтому работа Жидковой Екатерины Михайловны, посвященная разработке селективных агонистов рецептора глюкокортикоидов и, как следствие, оптимизации эффективности терапии больных РМЖ, имеет большое теоретическое и практическое значение.

Научная новизна

Жидковой Е.М. исследованы молекулярные механизмы действия новых селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора на модельных линиях клеток РМЖ, проведен сравнительный анализ эффектов нового соединения SpdA-03 с используемым в онкологической практике глюкокортикоидом дексаметазоном и хорошо изученным селективным агонистом глюкокортикоидного рецептора SpdA. Впервые оценена аффинность SpdA-03к рецептору глюкокортикоидов, описаны рецептор-

зависимые цитостатические эффекты CpдA-03 в отношении клеток РМЖ. Приведенные в работе данные свидетельствуют об отсутствии трансактивационного потенциала CpдA-03. Впервые показано, что CpдA-03, в отличие от дексаметазона, не оказывает стимулирующего влияния на миграцию клеток РМЖ *in vitro*. Это определяет научную новизну и практическую значимость исследования и полученных результатов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Работа выполнена на высоком методическом уровне, в соответствии с принятыми стандартами молекулярно-биологических исследований, полученные автором новые данные согласуются с имеющимися в литературе данными по изучению механизмов действия глюкокортикоидов и SEGRA. Все описанные эксперименты выполнены минимум в трех биологических повторах, с использованием адекватных отрицательных и положительных контролей. Достоверность полученных данных основана на корректном использовании в исследовании современных методов анализа, полученные результаты обработаны с использованием адекватных методов математической статистики.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертация Жидковой Е.М. написана в традиционном стиле, изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, описание методических подходов, описание полученных результатов и их обсуждение), заключения, выводов, списка условных сокращений и списка литературы, включающего 417 источников. Работа иллюстрирована 6 таблицами и 32 рисунками.

Во **введении** описана степень разработанности проблемы, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, а также поставлены цель и задачи исследования. Несмотря на широкое применение глюкокортикоидов в терапии, активация глюкокортикоидного рецептора имеет ключевое значение в развитии и прогрессии различных патологических состояний и процессов. В отношении РМЖ глюкокортикоиды обладают способностью стимулировать резистентность клеток опухоли к химиопрепаратам и метастазирование. Одним из перспективных подходов является использование селективных модуляторов (SEGRA), которые, при сохранении терапевтической активности, лишены способности вызывать побочные эффекты, опосредованные трансактивацией глюкокортикоидного рецептора.

В **литературном обзоре** на 33 страницах подробно представлена статистика заболеваемости РМЖ в Российской Федерации, дана характеристика молекулярных подтипов РМЖ. Также подробно описаны механизмы действия глюкокортикоидов, их роль в регуляции активности других клеточных рецепторов, описаны молекулярные механизмы их терапевтических и побочных эффектов, в том числе при злокачественных новообразованиях. В обзоре изложена информация о механизмах действия SEGRA, приведены примеры известных препаратов данной группы, обозначена актуальность исследования. В целом литературный обзор выстроен очень логично и написан грамотным языком, что позволяет получить полное представление о современном состоянии исследований в данной области.

В главе **Материалы и Методы** на 12 страницах перечислены материалы и приведено подробное описание методик, использованных в диссертационной работе. Они включают современные физико-химические и молекулярно-биологические методы, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Глава **Результаты** представлена на 27 страницах и посвящена описанию результатов проведенных исследований. Показано, что нестероидное соединение SpdA-03 является стабильным в различных условиях, обладает антипролиферативной активностью по отношению к клеткам РМЖ, не вызывает трансактивацию глюкокортикоидного рецептора (что является причиной многих негативных побочных эффектов глюкокортикоидов), а значит является очень перспективным для разработки инновационного препарата для повышения эффективности адъювантной химиотерапии РМЖ. Прделанная работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне, текст хорошо структурирован, объем результатов является достаточным для формулирования и обоснования представленных выводов.

В главе **Обсуждение** на 7 страницах автор детально сопоставляет полученные результаты с данными других исследователей, уделяет особое внимание описанию возможностей практического применения результатов данного исследования. Завершается работа заключением и выводами, которые полностью соответствуют полученным результатам. В целом, автором получены очень интересные и перспективные данные, открывающие возможность создания нового препарата для лечения различных патологических состояний, который в перспективе мог бы служить менее токсичной заменой глюкокортикоидам.

Немногочисленные замечания в основном относятся к оформлению работы или некоторым техническим моментам:

1. Ссылки в тексте диссертации начинаются с страницы 4 и появляются в следующем порядке – №№82, 287, 96, 172 и т.д. Более привычным является последовательная нумерация, которая начинается со ссылки №1.
2. В разделе 2.6. было бы уместно указать разведение антител, которые использовались для вестерн-блоттинга.
3. Встречаются не очень удачные термины – например, «Молекулярные механизмы, лежащие в основе промоции метастазирования...» (стр. 7), «Хронический стресс... промотирует пролиферацию...» (стр. 30), «Долговременная культивация клеток...» (стр. 98).
4. Для оценки пролиферативной активности, анализа клеточного цикла и уровней экспрессии генов клетки РМЖ инкубировали с изучаемыми препаратами в течение 120 часов, миграционной активности - 120 часов и затем дополнительно 4 и 24 часа, миграции в камере Бойдена – 24 и 120 часов, для анализа ядерной транслокации и фосфорилирования GR – 2, 4, 8 часов, для анализа целостности щелевых контактов, фаз клеточного цикла, экспрессии GR-зависимых генов и цитокинов – 24 часа, для анализа генов-маркеров трансактивации – 4-24 часа (4 часа для GILZ, 24 часа для FKBP51, 4, 24 или 120 часов для DDIT4). Очень хотелось бы видеть пояснения с чем именно связано такое различие в сроках инкубации клеток с препаратами и почему именно такие сроки были выбраны в каждом конкретном случае.

Все эти замечания несколько не снижают ценности и значимости данной работы, которая представляет собой прекрасное сочетание высокопрофессионального фундаментального исследования и перспективной разработки конкретного терапевтического препарата, столь необходимого в клинической практике.

Заключение

Диссертационная работа Жидковой Екатерины Михайловны на тему «Молекулярные механизмы действия новых селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора на клетки рака молочной железы является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение научной задачи, заключающейся в разработке подходов к повышению эффективности терапии больных с раком молочной железы, имеющей

значение для онкологии. Диссертационная работа соответствует всем 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, от 26 октября 2023 г. №1786, от 25 января 2024 г. №62), 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.

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

Официальный оппонент

Доктор биологических наук

(03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология,

03.01.07 – Молекулярная генетика)

Заведующий лабораторией гликобиологии

ФГБУН «ФИЦ ФТМ»



Григорьева Эльвира Витальевна

Подпись Григорьевой Э.В. заверяю

Ученый секретарь

ФГБУН «ФИЦ ФТМ»

Доктор биологических наук



Пальчикова Наталья Александровна

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Адрес: 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2. Тел. +7(383)274-95-57, e-mail: elv_grig@mail.ru

Личную подпись *Григорьевой Э.В.* заверяю
Пальчикова Н.А.
 Вер. специалист отдела кадров ФИЦ ФТМ
 "06" февраля 2025 г. подпись *Э.С.Б. Венедиктова*

