

## Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук, доцента, ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией медицинской биотехнологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Жданова Дмитрия Дмитриевича 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

Отечественное противоопухолевое лекарственное лечение берет свое начало в 40-х годах прошлого столетия. На сегодняшний день противоопухолевая химиотерапия прочно закрепилась в практике лечения большинства злокачественных заболеваний и является основным методом цитостатического воздействия при лейкозах и лимфомах. Неотъемлемым компонентом комбинированной химиотерапии по-прежнему являются глюкокортикоиды. Известно, что их биологические эффекты осуществляются посредством специфического связывания с рецептором глюкокортикоидов – транскрипционного фактора, регулирующего экспрессию множества генов. Как правило, терапевтические эффекты глюкокортикоидов реализуются посредством механизма транс-репрессии за счет подавления трансформированных клеток. В свою очередь, возникновение побочных эффектов при глюкокортикоидной терапии основано на ДНК-зависимом механизме транс-активации с последующей индукцией транскрипции генов, отвечающих за подавление апоптоза, развитие воспаления и стимуляции пролиферации. В частности, в основе атрофических эффектов глюкокортикоидов на кожный покров, мышечную и костную ткань, лежит стероид-индуцированная экспрессия гена *REDD1*. Использование препаратов, подавляющих экспрессию *REDD1*, позволило бы уменьшить



риск развития побочных эффектов при системном воздействии глюкокортикоидов. Однако в настоящее время таковых зарегистрированных лекарственных средств нет. Исходя из этого, исследование новых путей повышения безопасности и эффективности глюкокортикоидной терапии является актуальным для современной медицины, и, особенно, онкологии.

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

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе Осиповой А.В., обусловлена достаточным объемом исследований, обширной методической базой, использованием различных моделей злокачественных новообразований системы крови *in vitro* и *in vivo*, а также адекватным выбором методов для обработки данных. Полученный материал является достаточным для формулирования представленных выводов.

Научная новизна представленной диссертационной работы обоснована тем, что автором впервые были исследованы молекулярные механизмы действия ингибиторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR – вортманнина, LY294002 и AZD8055 в качестве агентов для таргетного подавления экспрессии гена *REDD1*, вносящего вклад в процесс развития побочных эффектов глюкокортикоидов.

### **Содержание и завершенность работы**

Диссертационная работа написана в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования, их обсуждения и выводов. Диссертация изложена на 129 страницах, содержит 4 таблицы и 33 рисунка. Список литературы включает 235 источников, из которых 24 — отечественные и 211 — зарубежные.

Во «**Введении**» автором освещены все требуемые разделы: обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, адекватно оценены его новизна и практическая значимость.



**Обзор литературы** содержит современные данные о патогенезе гематологических злокачественных новообразований, роли глюкокортикоидов в современной медицине и, в частности, онкологии, а также рассмотрен механизм действия и вклад REDD1 как глюкокортикоид-индуцируемого агента в развитие нежелательных реакций со стороны различных систем организма.

В главе 2 «**Материалы и методы**» подробно и воспроизводимо описаны все использованные в работе методики, что позволяет убедиться в адекватности их выбора по отношению к поставленным задачам.

В разделе «**Результаты исследования**» последовательно изложены основные этапы представленной диссертационной работы. На первом этапе автором были идентифицированы наиболее перспективные соединения – потенциальные ингибиторы экспрессии гена *REDD1*, ассоциированного с атрофическими явлениями после применения глюкокортикоидов, а также проведена оценка цитотоксических эффектов для подбора режима обработок *in vitro*. Далее автором было показано, что вортманнин, LY294002 и AZD8055 подавляют глюкокортикоид-индуцированный уровень экспрессии REDD1 как на уровне ДНК, так и на уровне белка, а также ингибируют сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR. Также применение ингибиторов позволяет подавить запуск механизма транс-активации, оказывающего влияние на процесс развития метаболических осложнений. Как *in vitro*, так и *in vivo* был продемонстрирован синергический противоопухолевый эффект LY294002 и дексаметазона, а также возможность подавления атрофических побочных эффектов хронического системного действия глюкокортикоидов *in vivo*.

В главе «**Обсуждение результатов**» автор подробно анализирует полученные результаты и сравнивает их с литературными данными. Подчеркивается значимость проведенного исследования в качестве перспективного направления – использования ингибиторов *REDD1* в онкологической и общей медицинской практике для профилактики атрофических эффектов глюкокортикоидов.



**Выводы** соответствуют поставленным задачам.

Диссертационная работа написана хорошим литературным языком, структурирована, качественно оформлена и иллюстрирована, и дает адекватное представление о проделанной работе.

По теме диссертации опубликовано 5 статей в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

**Замечания:**

1. Автор указывает, что рецепторы глюкокортикоидов существуют в виде нескольких сплайс-вариантов. Уровни синтеза сплайс-вариантов на изучаемых клетках не исследованы. Вполне вероятно, что применяемые ингибиторы оказываются менее специфичными к альтернативным сплайс-вариантам и наблюдается ложно отрицательный эффект – клетки синтезируют рецептор, но не чувствительны к ингибитору.

2. Эксперименты по определению цитотоксичности выполнены на двух линиях СЕМ и Granta-519. В работе не указано, к какому типу клеток они относятся. Из литературы известно, что СЕМ, это Т-лимфобласты, а Granta-519, это В-клеточная лимфома. Поэтому возникает вопрос к контрольным нормальным клеткам – какие клетки использовались в качестве контрольных? В работе нет описания того, как были получены нормальные клетки.

3. Из работы не понятно, каким образом была проведена селективная идентификация фосфорилированных форм рецепторов от нефосфорилированных.

4. В разделе «Материалы и методы» при описании необходимо указывать количество биологических повторов. Далее в разделе «Результаты исследования» в подрисуночных подписях данная информация указана. Таким же образом следует дополнять и описание использованных методик.



5. На рисунке 20 представлены данные уровня экспрессии рецептора глюкокортикоидов в цитоплазме и ядре. На графиках денситометрического анализа интенсивности полос указано, что они нормализованы относительно GAPDH. Хотя очевидно, что нормирование ядерной фракции производили относительно гистона 3. Аналогичным образом пропущен гистон 3 в описании «Материалов и методов», а также в подрисуночных подписях к рисунку 5 в тексте автореферата.

6. В тесте автореферата после таблицы 2 идет сразу таблица 4, а также присутствуют немногочисленные опечатки и англицизмы, например, «Дех-индуцированное фосфорилирование». На многих рисунках текст на английском.

Перечисленные замечания относятся преимущественно к оформлению работы и не снижают общего положительного впечатления от представленной диссертационной работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Осиповой Алены Валерьевны на тему: «Ингибирование REDD1 как новый подход к повышению эффективности и безопасности глюкокортикоидной терапии злокачественных новообразований кроветворной системы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная проблема современной онкологии – разработан способ подавления развития системных метаболических осложнений при глюкокортикоидной терапии злокачественных новообразований системы крови, что вносит значительный вклад в дальнейшее развитие перспективного направления в онкологии.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертационная работа Осиповой Алены Валерьевны полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых



степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции от 01 октября 2018 г. № 1168 с изменениями от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539 и от 26 сентября 2022 г. №1690), 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*

Ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией медицинской биотехнологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», доктор биологических наук по специальности 03.01.04. – «биохимия», доцент.

Жданов Дмитрий Дмитриевич

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)

Адрес: 119121, Россия Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8.

Тел.: +7 (499) 246 33 80

Электронный адрес: zhdanovdd@mail.ru

«18» сентября 2023 г.

*И.И. Карпова*

Подпись *И.И. Карпова*  
заверяю  
Ученый секретарь ИБМХ к.х.н. Карпова Е.А.

