

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН, руководителя отдела биологии опухолевого роста и заведующий лабораторией молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Имянитова Евгения Наумовича 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**

Диссертационная работа Лесовой Е.А. посвящена исследованию подходов к избирательной активации глюкокортикоидного рецептора (ГР) при злокачественных новообразованиях кроветворной системы и их потенциального применения в химиотерапии гемобластозов. Актуальность данной работы обусловлена частым применением высоких доз глюкокортикоидов (ГК) при лечении злокачественных новообразований кроветворной системы и, наряду с эффективным снижением числа злокачественных бластных клеток, развитием серьезных метаболических осложнений (стероидный диабет, синдром Иценко-Кушинга, остеопороз). Биологические эффекты глюкокортикоидов осуществляются посредством связывания лиганда с глюкокортикоидным рецептором. В результате этого связывания происходит диссоциация мультипротеинового комплекса, в котором ГР находится в цитоплазме, высвобождение рецептора и его дальнейшее связывание с лигандом. Активированный рецептор перемещается в ядро, где действует как транскрипционный фактор, взаимодействуя с глюкокортикоид-респонсивными элементами в промоторах и энхансерах генов, связанных с развитием воспаления, стимуляцией пролиферации и ослаблением индукции апоптоза. Таким образом реализуется механизм транс-активации. В то же время активированный рецептор

может взаимодействовать с другими транскрипционными факторами, находящимися как в ядре, так и в цитоплазме клеток, подавляя их активность, что описывают как запуск механизма транс-репрессии, приводящий к снижению жизнеспособности трансформированных клеток. При действии ГК обычно запускаются оба механизма действия ГР, что приводит к нелинейной зависимости суммарного эффекта от дозы препарата. Противовоспалительные и противоопухолевые эффекты глюкокортикоидов реализуются за счет транс-репрессии, в то время как развитие большей части ГК-индуцируемых побочных эффектов обусловлено ДНК-зависимым механизмом транс-активации. Эта схема механизмов действия ГР является довольно упрощенной, поскольку не все побочные эффекты ассоциированы с запуском транс-активации, равно как и не все терапевтические эффекты определяются транс-репрессией. Однако угнетение запуска транс-активации позволит избежать развития побочных эффектов, для которых роль транс-активации в патогенезе была доказана: в частности, нарушения метаболизма глюкозы, атрофические явления в коже, мышечной и костной ткани. В настоящее время описаны два подхода к избирательной индукции ГР-зависимой транс-репрессии. Первый заключается в использовании химических соединений нестероидной структуры, однако аффинными к рецептору глюкокортикоидов и действующим как частичные агонисты, индуцирующие только механизм транс-репрессии. Уменьшение риска системных побочных эффектов при сохранении противовоспалительной активности является следствием применения препаратов данного класса - селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора (SEGRA). Специфика фармакологического действия SEGRA в настоящее время рассматривается как новый подход для повышения безопасности и эффективности химиотерапии лейкозов и лимфом. Вторым подходом к снижению побочных эффектов при длительной высокодозной терапии ГК является направленное подавление экспрессии генов, опосредующих развитие таких осложнений. Учитывая широкое использование глюкокортикоидов при лечении онкологических заболеваний, поиск путей

повышения безопасности и эффективности терапии является актуальным для экспериментальной онкологии.

### **Содержание и завершенность диссертационного исследования**

Диссертационная работа написана по традиционной форме, изложена на 304 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, главы с описанием использованных материалов и методов, глав «Результаты» и «Обсуждение результатов», заключения и списка цитируемой литературы, включающего 757 источников, из которых 20 – работы отечественных авторов. Работа иллюстрирована 61 рисунком и 15 таблицами.

**Во «Введении»** в краткой форме обоснованы актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

**Раздел «Обзор литературы»** посвящен описанию механизмов действия глюкокортикоидного рецептора, анализу эффектов глюкокортикоидного рецептора на основные сигнальные пути, с которыми связана злокачественная трансформация клетки, описанию биологических свойств известных лигандов ГР, в том числе и SEGRA, а также анализу функциональной активности специфических ГР-зависимых генов, опосредующих побочные эффекты ГК, и описанию подходов к перепрофилированию лекарственных препаратов для использования в онкологии на основании механизмов их действия. Материал главы изложен хорошим литературным языком. Замечаний к данному разделу нет.

**Из раздела «Материалы и методы»** можно заключить, что автор воспользовался весьма разнообразным арсеналом современных и адекватных поставленным задачам методов.

**Раздел «Результаты исследования»** посвящен комплексному изучению противоопухолевых свойств SEGRA, синтезированных на основе молекулы 2-(4-ацетоксифенил)-2-хлор-N-метилэтиламмоний хлорида или CpдА, как индивидуально, так и в сочетании с химиопрепаратами, использующимися в

клинической практике, или потенциальными противоопухолевыми препаратами. Вторая часть исследования посвящена изучению роли гена REDD1 в реализации побочных эффектов ГК, поиску путей ингибирования его экспрессии и исследованию эффектов ингибирования REDD1 на побочные и терапевтические эффекты ГК.

**В разделе «Обсуждение результатов»** проведено сопоставление полученных данных с данными литературы и сделан вывод о перспективности избирательного запуска Гр-зависимой транс-репрессии применительно к использованию данного подхода к терапии злокачественных новообразований кроветворной системы. **Обсуждение результатов** свидетельствует об аналитических способностях автора, о навыках работы с литературой, умение сопоставить собственные данные с результатами других исследователей. Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне и является ценным оригинальным исследованием, давшим принципиально новые интересные результаты. Данные, полученные в ходе работы, обобщены в 9 выводах, непосредственно отражающих результаты работы.

Автореферат и 23 научных статьи, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, полностью отражают полученные диссертантом результаты научного исследования.

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

Сформулированные автором положения, выносимые на защиту, четко обоснованы в тексте диссертации. В качестве методологической основы исследования автором были использованы комплексный и системный подходы с применением современных физико-химических и молекулярно-биологических методов исследования и использованием модельных систем *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*. Завершающие диссертационную работу выводы обоснованы фактическим материалом, полученным в результате выполнения представленной работы. Достоверность результатов подтверждена адекватным выбором методов и использованием современных методов математической статистики.



## **Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые изучены подходы к селективной активации глюкокортикоидного рецептора при злокачественных новообразованиях кроветворной системы. Так, были изучены биологические свойства 2-(4-ацетоксифенил)-2-хлор-N-метилэтиламмоний хлорид, или CpдA, проведен синтез его оптических изомеров, химических производных, а также получены наночастицы, загруженные данным соединением. Для всех исследуемых молекул впервые изучена противоопухолевая активность *in vitro* и *in vivo*, отобраны наиболее активные молекулы. Впервые была исследована роль гена REDD1 в побочных и терапевтических эффектах глюкокортикоидов. Подбор ингибиторов REDD1, основанный на идее перепрофилирования лекарственных препаратов с помощью биоинформатического скрининга, был также проведен впервые. Для наиболее перспективного по итогам исследований *in vitro* ингибитора REDD1 рапамицина было показано кооперативное противоопухолевое действие в комбинации с дексаметазоном *in vivo*, а также ослабление развития GC-опосредованных побочных эффектов – атрофии кожного покрова и остеопороза.

Достоверность полученных результатов обусловлена тем, что представленные в работе теоретические положения, выводы и методологические подходы основаны на глубокой и тщательной проработке полученных в работе данных с применением комплекса современных молекулярно-биологических и статистических методов, адекватных поставленным задачам. Представленных объем экспериментальных наблюдений и качество обработки данных являются достаточными для решения поставленных задач, обеспечивают достоверность результатов исследования и сформулированных выводов.

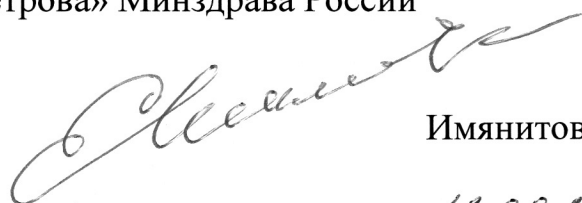
## **Заключение**

В диссертационной работе Лесовой Е.А. «Модулирование активации глюкокортикоидного рецептора в химиотерапии гемобластозов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук, разработаны теоретические положения по модулированию активности глюкокортикоидного

рецептора при химиотерапии злокачественных новообразований кроветворной системы с целью повышения безопасности и эффективности терапии. Совокупность данных теоретических положений можно квалифицировать как новое крупное достижение в развитии онкологии. Диссертация 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:**

Руководитель отдела биологии опухолевого роста;  
заведующий лабораторией молекулярной онкологии  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН



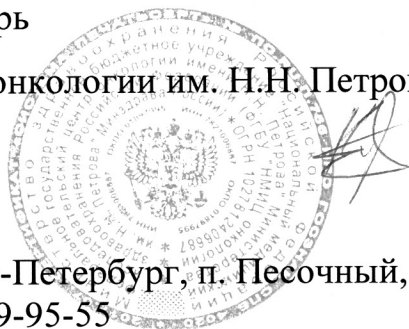
Имянитов Е.Н.

12.09.2019

Подпись д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Имянитова Е.Н. «Заверяю»:

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,  
к.б.н.



Киреева Г.С.

197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68  
Тел.: +7(912) 439-95-55  
E-mail: oncl@rlon.spb.ru  
<https://www.niioncologii.ru>