ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Одаренко Кирилла «Разработка новых подходов терапевтического ингибирования эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Актуальность темы.

Злокачественные новообразования на сегодняшний день продолжают оставаться одной из наиболее актуальных клинических проблем. Несмотря на значительные успехи в терапии опухолей, фенотипическая пластичность опухолевых клеток, обуславливающая генерализацию опухолевого процесса и приобретение опухолями лекарственной устойчивости, является одним из основных препятствий эффективной противоопухолевой терапии.

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – это молекулярно-биологический процесс, в ходе которого эпителиальные опухолевые клетки, прочно связанные друг с другом и слабоподвижные, переходят в мезенхимально-подобный фенотип, утрачивая межклеточные контакты и приобретая высокий миграционный и инвазивный потенциал. Клетки с мезенхимальным фенотипом способны преодолевать тканевые барьеры, распространяться по органам и тканям через кровоток и лимфатическую систему и формировать метастазы. Кроме того, ЭМП связан с приобретением опухолевыми клетками свойств стволовых клеток, устойчивых к действию стандартных химиотерапевтических и таргетных препаратов.

Таким образом, учитывая ключевую роль ЭМП в патогенезе многих онкологических заболеваний, изучение молекулярных механизмов этого процесса и разработка его терапевтических ингибиторов, чему и посвящена диссертационная работа Одаренко Кирилла, является безусловно актуальной задачей и очень перспективным направлением исследования.

Структура и общая характеристика диссертационной работы

Диссертация Одаренко К. имеет классическую структуру и состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Выводы» и «Список литературы». Работа изложена на 193 страницах, включает 41 рисунок, 7 таблиц и 1 Приложение. Список литературы содержит 376 источников.

Во введении автор обосновал актуальность проводимого исследования, поставил цель исследования, изложил необходимые к выполнению задачи и положения, выносимые на защиту, отразил научную новизну полученных результатов и практическую значимость работы, а также привел информацию об апробации результатов работы и личном вкладе автора.

Обзор литературы включает анализ литературных источников, относящихся к исследуемой проблеме, в том числе, значительное количество самых современных публикаций по теме работы, исчерпывающе обосновывающих ее актуальность. В первой части обзора подробно рассмотрены молекулярно-биологическая характеристика как эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), так и обратного процесса - мезенхимально-эпителиального перехода (МЭП), а также разновидностей ЭМП в опухолях нейроэктодермального происхождения. Вторая часть обзора посвящена методам ингибирования ЭМП как стратегии терапии онкологических заболеваний: использование мишень-ориентированного и фенотип-ориентированного подходов, а также перепрофилирование известных лекарственных агентов

для выявления их анти-ЭМП потенциала. Обзор дает полное представление о современных задачах, достижениях и проблемах в области исследования и может быть оформлен, как самостоятельная научная публикация.

Глава «Материалы и методы» содержит описание используемых в работе реактивов, материалов и методов и позволяет воспроизвести проведенные эксперименты. При проведении исследований диссертантом применены разнообразные молекулярно-биологические и биоинформатические подходы, а также методы работы с культурами клеток и лабораторными животными, что подтверждает высокий научно-методический уровень проведенных исследований.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из нескольких разделов: разделы 1 – 4 посвящены исследованию способности солоксолон метила (СМ) и его амидных производных модулировать ЭМП и ПМП (пронейрально-мезенхимальный переход) опухолевых клеток различного гистогенеза, а также влияния СМ на фенотипические изменения клеток нейробластомы, индуцированные лептином. В работе показано, что СМ способен избирательно влиять на различные аспекты пластичности опухолевых клеток, в частности, на механизмы метастазирования, что указывает на то, что тритерпеноиды солоксолоновой группы являются перспективными ЭМП- и ПМП-модулирующими агентами.

Далее, в результате скрининга библиотеки амидов солоксолона на способность ингибировать TGF-β1-индуцированный ПМП клеток глиобластомы, было выбрано соединение-лидер – пара-метиланилид солоксолона (пМАС), имеющее наиболее выраженный анти-ПМП потенциал. Способность пМАС ингибировать ПМП была верифицирована как *in vitro*, так и *in vivo*: было установлено, что пМАС подавляет ПМП клеток глиобластомы за счет ингибирования сигнальной оси TGF-β1/SMAD2/3, снижает стволовые свойства опухолевых клеток и их устойчивость к темозоломиду, а также тормозит рост подкожных ксенотрансплантатов глиобластомы как в режиме монотерапии, так и в комбинации с темозоломидом.

В разделе 5 исследована роль гена *ADAMTS6* в процессах ЭМП клеток аденокарциномы легкого человека. Регуляторный потенциал *ADAMTS6* оценен с помощью анализа генных сетей и верифицирован на клетках аденокарциномы легкого человека *in vitro*. Показано, что нокаут этого гена снижает метастатический потенциал опухолевых клеток и их устойчивость к доксорубицину, что ассоциировано с подавлением сигнального пути NF-κB. На основании полученных данных сделано заключении о том, что протеаза ADAMTS6 может быть перспективной терапевтической мишенью для разработки ингибиторов ЭМП.

Раздел 6 посвящен поиску потенциальных ингибиторов ПМП клеток глиобластомы в библиотеке низкомолекулярных соединений с помощью перепрофилирования, основанного на анализе транскриптомных данных. В представленной работе *in silico* перепрофилирование было впервые применено для поиска ингибиторов ПМП: была сформирована генная сигнатура ПМП, и с использованием метода connectivity map идентифицирован низкомолекулярный ингибитор ПМП антрапиразолон SP600125. Способность SP600125 подавлять пронейрально-мезенхимальный переход, индуцированный в клетках глиобластомы человека TGF-β1 и хлоридом кобальта, была подтверждена в экспериментах *in vitro*.

Таким образом, проведенное исследование позволило идентифицировать новые молекулярные мишени и соединения для ингибирования мезенхимального перехода в опухолевых клетках, которые могут быть применены в терапии онкологических заболеваний.

С применением фенотип-ориентированного подхода установлен выраженный ингибирующий потенциал цианоенон-несущих пентациклических тритерпеноидов в отношении мезенхимальной пластичности опухолевых клеток.

В процессе мишень-ориентированного поиска идентифицирована новая молекулярная мишень для анти-ЭМП терапии аденокарциномы легких - протеаза ADAMTS6, ингибирование которой представляется перспективным для подавления процесса ЭМП клеток аденокарциномы, что обосновывает целесообразность разработки селективных ингибиторов ADAMTS6 для терапии аденокарциномы легких.

Впервые показана принципиальная возможность использования метода connectivity map для поиска ингибиторов ПМП, выявлен низкомолекулярный ингибитор ПМП антрапиразолон SP600125, и его анти-ПМН активность подтверждена на клеточных моделях ПМП.

Диссертация написана хорошим научным языком, хорошо структурирована и легко читается. Результаты, полученные автором, вносят значительный вклад в понимание механизмов пластичности опухолевых клеток и создают основу для разработки новых противоопухолевых агентов, направленных на снижение метастатического потенциала и преодоление лекарственной устойчивости опухолей.

Достоверность результатов и обоснованность выводов

Достоверность полученных результатов определяется применением разнообразных современных методов и подходов, как молекулярно-биологических, так и биоинформатических, большим объемом данных и их тщательной статистической обработкой.

Выводы диссертации обоснованы, полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования и отражают полученные в работе результаты, которые, в свою очередь, представлены в 6ти научных статьях, опубликованных в зарубежных журналах первого квартиля.

Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы и отражает все основные результаты исследования.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом и научном уровне. Орфографические и технические неточности, встречающиеся в тексте диссертации и автореферата, в целом не портят общего впечатления о работе и не влияют на окончательную оценку.

Научная новизна и практическая значимость исследования не вызывают сомнений.

В диссертационной работе Одаренко Кирилла впервые установлено, что цианоенон-содержащие тритерпеноиды солоксолоновой группы способны избирательно влиять на различные аспекты пластичности опухолевых клеток, модулируя процессы эпителиально-мезенхимального и пронейрально- мезенхимального перехода.

В библиотеке амидов солоксолона впервые выявлены низкомолекулярные ингибиторы пронейрально-мезенхимального перехода клеток глиобластомы человека и показано, что лидерное соединение - пара-метиланилид солоксолона (пМАС), эффективно ингибирует ПМП клеток U87, индуцированный TGF-β1, подавляет стволовые характеристики клеток и повышает их чувствительность к цитотоксическому действию темозоломида, а также, как в режиме монотерапии, так и в комбинации с темозоломидом, эффективно тормозит развитие подкожных ксенографтов глиобластомы *in vivo*.

Впервые описано влияние адипокина лептина на злокачественные характеристики клеток нейробластомы и показано, что лептин усиливает миграцию клеток, но не индуцирует их нейрально-мезенхимальный переход. Установлено, что солоксолон метил снижает эффект лептина в клетках Neuro2a за счет ингибирования сигнального пути ERK1/2.

Впервые *in silico* показана ключевая роль гена *ADAMTS6* в регуляции ЭМП клеток аденокарциномы легкого и *in vitro* установлено, что нокаут ADAMTS6 ингибирует ЭМП клеток A549 аденокарциномы легкого человека за счет подавления сигнального пути NF-κB.

Впервые с использованием метода connectivity map в библиотеке одобренных и экспериментальных лекарственных препаратов выявлены ингибиторы ПМП и экпериментально верифицирована способность соединения-лидера антрапиразолона SP600125 эффективно ингибировать ПМП, индуцированный TGF-β1 и гипоксией, в клетках глиобластомы человека.

Результаты, представленные в диссертации, имеют большую практическую значимость, поскольку выявленные и верифицированные ингибиторы ЭМП и ПМП - солоксолон метил, пара-метиланилид солоксолона (пМАС) и антрапиразолон SP600125, могут являться основой для разработки противоопухолевых лекарственных средств и, в дальнейшем, включены в схемы терапии злокачественных новообразований, обеспечивая уменьшение инвазивного потенциала опухолевых клеток и повышая их чувствительность к химиотерапевтическим препаратам.

Замечания и вопросы для дискуссии:

Замечания:

1. Раздел «Результаты и обсуждение» перегружен рисунками: в основном тексте 41 рисунок, в Приложении - еще 8, каждый рисунок состоит из нескольких (от 3 – до 5). Рисунки часто мелкие, некоторые, особенно в автореферате, практически нечитаемые, что усложняет восприятие результатов. В Автореферате часть рисунков вполне можно было опустить, а оставшиеся сделать крупнее.
2. На Рисунках 14, 15 (рис. 3 автореферата), рисунке 17 (рис. 5, А - В автореферата) и рисунках 39, 40, 41 (рис. 9, 10 автореферата) не хватает контролей солоксолонметила (СМ), пара-метиланилид солоксолона (пМАС) и антрапиразолона SP600125, соответственно.
3. Рисунок 5, Е автореферата - на графике «вес» опухоли, в тексте – «масса» опухоли.
4. В автореферате для разделов 2.1 и 2.2 – один объединенный рисунок, что не вполне удобно при чтении.

Представленные замечания имеют технический характер и не умаляют значимости проведенного исследования, полученных результатов и сделанных выводов.

Вопросы для дискуссии:

Поскольку исследуемые в работе соединения предлагается использовать как платформу для создания противоопухолевых лекарственных средств, очень важными являются вопросы их терапевтической безопасности.

Что известно об общей и специфической токсичности исследуемых соединений, а также об их иммуногенности?

Есть ли в литературе данные о фармакокинетике полусинтетических тритерпеноидов и размере терапевтического окна при их использовании?

Какой способ введения лекарственных препаратов на основе исследуемых соединений, по мнению автора, будет оптимальным?

Заключение

Диссертационная работа Одаренко Кирилла на тему «Разработка новых подходов терапевтического ингибирования эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология, является законченным исследованием, которое по своей актуальности, новизне, уровню проведенных исследований и практической значимости полностью соответствует требованиям п.п. 2.1 – 2.5 Положения о порядке присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре СО РАН, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор, Одаренко Кирилл, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН), кандидат биологических наук (03.00.04 – биохимия) Кулигина Елена Владимировна

630090, г. Новосибирск,
Пр. Ак. Лаврентьева, 8
Тел. 8 (383) 363-51-90

Подпись к.б.н. Кулигиной Е.В. заверяю
Ученый секретарь ФГБУН ИХБФМ СО РАН
к.б.н. Логашенко Евгения Борисовна
Тел: 8 (383) 363-51-55
e-mail: secretary@1bio.ru

дата отзыва: 16 ноября 2026 г.