ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию 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 диссертационной работы

Метастазирование и лекарственная устойчивость опухолей представляют собой основные барьеры, ограничивающие эффективность противоопухолевой терапии. Одним из активно исследуемых молекулярных механизмов, опосредующих эти аспекты опухолевой прогрессии, является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). В ходе ЭМП изменяется ряд фенотипических характеристик опухолевых клеток, связанных с их агрессивностью: в частности, повышаются инвазивность и стволовость клеток, способствующие метастазированию и химиорезистентности соответственно. Поэтому в настоящее время ЭМП рассматривается в качестве перспективной мишени для противоопухолевой терапии. Основные усилия в этом направлении были сосредоточены на подавлении внутриклеточных сигнальных путей, опосредующих индукцию ЭМП. Однако ингибиторы сигнальных путей ЭМП не показали значительной противоопухолевой активности в клинических испытаниях. В этой связи важной и актуальной представляется диссертационная работа Одаренко К., посвященная исследованию возможностей разработки эффективных способов ингибирования ЭМП опухолевых клеток.

Научная новизна и практическая значимость результатов

Научная новизна связана с впервые проведенной оценкой ЭМП-ингибирующей активности цианоенон-содержащих пентациклических тритерпеноидов – ранее выявленного класса противоопухолевых соединений. В результате *in vitro* экспериментов были идентифицированы соединения-кандидаты на роль ингибиторов ЭМП – солоксолон метил (СМ) и пара-метиланилид солоксолона (пМАС). СМ эффективно подавляет индуцированный TGF-β ЭМП клеток аденокарциномы легкого, а пМАС – его аналог в клетках глиобластомы, пронейрально-мезенхимальный переход (ПМП). Выявленная *in vivo* способность СМ и пМАС подавлять опухолевую прогрессию на мышиных моделях указывает на возможность их применения в терапии онкологических заболеваний.

Предложен подход, основанный на анализе транскриптомных изменений, происходящих в клетках глиобластомы в ходе ПМП, и использовании полученных данных для *in silico*

поиска ингибиторов ПМП в библиотеках лекарственных препаратов методом connectivity map. Выявленный с применением данного подхода антрапиразолон SP600125 эффективно подавляет ПМП в условиях *in vitro*, что указывает на перспективность его дальнейшего изучения в качестве противоопухолевого агента. Предложенный подход универсален и может быть адаптирован для поиска ингибиторов ЭМП и его специфических разновидностей в опухолях различного гистогенеза.

Потенциально высокое практическое значение имеет и показанная ключевая роль гена *ADAMTS6* в регуляции ЭМП клеток аденокарциномы легкого. Полученные данные указывают на перспективность использования кодируемой им внеклеточной протеазы ADAMTS6 в качестве мишени при разработке анти-ЭМП терапии.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Одаренко К. построена традиционным образом и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Работа изложена на 193 страницах, включает 41 рисунок, 7 таблиц и 1 приложение, список литературы содержит 376 источников.

Введение диссертации посвящено общей характеристике работы. В нем автор обосновывает актуальность и степень разработанности темы, обозначает цель и задачи исследования, характеризует новизну и практическую ценность полученных результатов, а также формулирует положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы посвящен описанию ЭМП как молекулярного механизма, опосредующего опухолевую прогрессию, и основным подходам к разработке терапевтических средств, направленных на его подавление. Автор подробно анализирует ограничения существующих подходов к терапевтическому ингибированию ЭМП и намечает пути их преодоления – от низкомолекулярных ингибиторов ЭМП на основе природных метаболитов и препаратов, подавляющих взаимодействие опухолевых клеток с их микроокружением, до *in silico* моделей предсказания ЭМП-ингибирующей активности соединений. Обзор хорошо иллюстрирован, опирается на широкий круг литературных источников и формирует целостное представление о современных концепциях в данной области исследований.

В главе «Материалы и методы» содержится детальное описание научно-методических подходов, примененных автором для достижения поставленных целей и задач. Подробное описание методик обеспечивает воспроизводимость полученных результатов, а их высокая достоверность обосновывается применением соответствующих методов статистического анализа.

Полученные в ходе работа Одаренко К. экспериментальные данные подробно описаны в главе «Результаты и обсуждение».

На первом этапе был проведен анализ ингибирующего действия цианоенон-несущих тритерпеноидов на фенотипическую пластичность опухолевых клеток. Обнаружено, что СМ предотвращает усиление подвижности клеток аденокарциномы легкого под действием ростового фактора TGF-β, который, как было показано, индуцирует ЭМП. В то же время СМ, предотвращая потерю адгезии к матриксу, не влияет на усиление подвижности клеток нейробластомы под действием другого фактора микроокружения – лептина, связь которого с ЭМП в рамках данной работы выявлена не была. Это позволило автору предположить, что солоксолоновый остов является перспективной основой для создания препаратов, направленных на подавление ЭМП и его тканеспецифических разновидностей. В соответствии с этим в экспериментах *in vivo* было показано, что введение мышам СМ снижает метастазирование клеток меланомы B16 в легкие, что было ассоциировано с подавлением ЭМП-ассоциированных маркеров.

Одаренко К. был проведен скрининг библиотеки производных СМ, несущих в положении C-30 амидные заместители и способных, согласно ранее опубликованным данным, лучше проникать через гематоэнцефалический барьер, с целью выявления ингибирующего действия в отношении ПМП клеток глиобластомы. Было выявлено соединение-лидер пМАС, для которого было проведено более углубленное изучение биологической активности. Важно, что пМАС подавляет ПМП и ассоциированную с ним инвазивность клеток глиобластомы за счет блокировки сигнального пути TGF-β/SMAD2/3. Кроме того, соединение повышает чувствительность клеток глиобластомы к цитотоксическому действию темозоломида – основного применяемого в терапии глиобластомы препарата – за счет индукции активных форм кислорода и подавления стволовых свойств клеток. *In vivo* было показано, что СМ замедляет рост подкожных опухолей U87 глиобластомы человека у мышей линии Nude как в монорежиме, так и в составе комбинированной терапии с темозоломидом.

Был проведен ре-анализ множества ранее опубликованных наборов транскриптомных данных, показавший ключевую роль гена *ADAMTS6* в регуляции ЭМП, индуцируемого в клетках аденокарциномы легкого широким набором условий: действием ростовых факторов, воспалительных цитокинов, мутациями и др. Ассоциация данного гена с ЭМП была подтверждена экспериментами *in vitro*, в которых было показано, что нокаут *ADAMTS6*, подавляя маркеры ЭМП, снижает метастатический потенциал и лекарственную устойчивость клеток аденокарциномы легкого через сигнальный путь NF-κB.

Проведенный ре-анализ данных РНК-секвенирования опухолей пациентов и клеточных линий глиобластомы позволил установить генную сигнатуру ПМП, ассоциированную с ключевыми ПМП-индуцирующими факторами микроокружения – TGF-β и гипоксией; некоторые гены сигнатуры значимы как маркеры неблагоприятного прогноза выживаемости пациентов. С использованием полученных данных Одаренко К. впервые выполнил *in silico* перепрофилирование библиотеки известных лекарственных препаратов методом connectivity map, что привело к выявления 120 соединений-кандидатов на роль ингибиторов ПМП. Среди них с помощью хемоинформатического анализа и подходов сетевой фармакологии было выявлено соединение-лидер SP600125, способное, согласно *in silico* оценке, проникать через гематоэнцефалический барьер и воздействовать на регуляторное ядро ПМП в клетках глиобластомы. *In vitro* было показано, что SP600125 подавляет ПМП клеток глиобластомы, индуцированный TGF-β или $CoCl_2$ (миметиком гипоксии), что подтверждает данные *in silico* анализа.

Заключение и выводы обобщают полученные результаты и в полной мере подтверждаются приведенными данными, и их обоснованность не вызывает сомнений. Представленный в диссертации материал получен и проанализирован автором лично либо при его непосредственном участии.

Достоверность и обоснованность результатов

Достоверность результатов обеспечена применением комплекса современных молекулярно-биологических и биоинформатических методов исследования, а также корректной статистической обработкой полученных данных. Выводы работы логично следуют из представленных данных и в достаточной мере обоснованы. Основные результаты исследования опубликованы в 5 экспериментальных статьях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, а также доложены на 9 международных и всероссийских конференциях. Некоторые теоретические аспекты диссертации были также обобщены в обзорной статье.

Публикации полностью отражают основное содержание диссертации. Содержание автореферата соответствует основным идеям и выводам диссертации. Работа изложена логично и читается легко; опечатки и неудачные формулировки почти отсутствуют.

Замечания

В ходе ознакомления с работой возникли некоторые замечания, которые не умаляют важность проделанной работы, однако требуют разъяснения:

1. В цели работы обозначено «поиск подходов…», хотя в актуальности работы эти направления уже указаны, поэтому такая формулировка видится не совсем корректной.

2. Сама работа оставляет впечатление компиляции трех разных исследований, собранных вместе без единой, четко обозначенной, связующей логики. В каждом блоке используются свои отдельные наборы экспериментов, которые не связаны между собой, включая разные клеточные линии.

3. Основной проблемой, на которую направлена работа, является ЭМП, однако в экспериментах с СМ и лептином на клетках НБ такого изменения отмечено не было, поэтому неочевидно наличие этих результатов в работе.

4. В ходе исследования использованы как человеческие клеточные линии, так и мышиные. С чем связан данный выбор?

Заключение

Представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук диссертационная работа Одаренко Кирилла «Разработка новых подходов терапевтического ингибирования эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена важная задача по разработке новых подходов к ингибированию эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток, имеющих большое значение для современной противоопухолевой терапии.

По актуальности затронутых вопросов, научной новизне, практической значимости и объему проведенной работы диссертация отвечает требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины им. Д. Г. Кнорре СО РАН, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах в Институте химической биологии и фундаментальной медицины им. Д. Г. Кнорре СО РАН.

По мнению официального оппонента, Одаренко Кирилл заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.3. – молекулярная биология.

Заведующий лабораторией ингибиторов вирусных протеаз Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН),
заместитель директора ИММТ НГУ по биомедицинским разработкам и фармации,
заведующий кафедрой фармации ИММТ НГУ
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»,
доктор биологический наук, доцент,
e-mail: khvostov@nioch.nsc.ru; тел. +7 (383) 3303663

Хвостов Михаил Владимирович

16.11.2026

Адрес: 630090, г. Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 9, НИОХ СО РАН

Контактный телефон НИОХ СО РАН: (383) 330-88-50; факс (383)330-97-52;

E-mail: benzol@nioch.nsc.ru; адрес официального сайта: https://web3.nioch.nsc.ru/nioch/

Подпись Хвостова М.В. заверяю:
Ученый секретарь НИОХ СО РАН,
кандидат химических наук

Бредихин Роман Андреевич

16.11.2026