

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**на диссертационную работу Ломовской Яны Владимировны
на тему: «Резистентность клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-
индуцированной гибели при дифференцировке в условиях
гиперклеточного провоспалительного микроокружения»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология**

Актуальность темы диссертации

В настоящее время острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) остаётся низко излечиваемым злокачественным новообразованием гемопоэтической системы, что обусловлено высокой частотой возникновения рецидивов ОМЛ после проведения курсов химиотерапии. Рецидивы возникают на фоне сохранения части лейкозных клеток в костном мозге, выживаемость которых поддерживается формированием лекарственной устойчивости. Перспективным кандидатом на роль препарата для лечения ОМЛ является белок TRAIL, который представляет собой цитокин, обладающий в организме избирательной противоопухолевой активностью, однако, приобретение опухолевыми клетками устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу, ограничивает применения данного цитокина в терапии ОМЛ и делает необходимым изучение механизмов, лежащих в основе формирования устойчивости клеток к TRAIL. Учитывая сказанное, диссертационная работа Ломовской Я.В., посвящённая изучению механизмов резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к цитотоксическому действию TRAIL при дифференцировке клеток в условиях гиперклеточного микроокружения, является обоснованной и актуальной.

Научная новизна и значимость диссертационной работы

Научная новизна диссертационной работы Ломовской Я.В. не вызывает сомнений. Автором впервые показано, что в условиях воспалительного гиперклеточного микроокружения возможно возникновение миелоидных

лейкозных клеток с дифференцированным прикрепленным фенотипом. Впервые подробно описан макрофагоподобный фенотип полученных в условиях воспалительного гиперклеточного микроокружения клеток ОМЛ. Показано, что дифференцированные макрофагоподобные клетки ОМЛ являются устойчивыми к TRAIL-индуцированной гибели. Выявлено, что TRAIL-резистентность макрофагоподобных клеток ОМЛ связана с повышением экспрессии гена BIRC3 антиапоптотического белка cIAP2, а также со снижением экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5. Также показано, что TRAIL-резистентность макрофагоподобных клеток ОМЛ возникает при провоспалительной активации клеток и может быть ассоциирована с интерлейкином 1 β . Не менее значимым и новым результатом работы является демонстрация возможности подавления устойчивости дифференцированных клеток ОМЛ к действию TRAIL, посредством применения индукторов экспрессии рецепторов DR5 – туникамицина и SAHA.

Полученные в работе Ломовской Я.В. результаты интересны и важны для нормальной физиологии клеток, так как описывают биологическую основу клеточной дифференцировки, а также с точки зрения изучения влияния условий патологического гиперклеточного воспалительного микроокружения на функционирование лейкозных клеток. Перспектива практического применения полученных результатов очевидна, так как полученные автором результаты показывают принципиальную возможность коррекции изучаемых патологических процессов связанных с устойчивостью к TRAIL-индуцированной гибели.

Степень достоверности результатов исследований, положений и заключения

Работа Ломовской Яны Владимировны является законченным, логично выстроенным самостоятельным исследованием. Степень достоверности полученных автором научных результатов подтверждена данными множества экспериментов и их воспроизводимостью. Для реализации поставленных задач диссертант использовал классические и современные методы

исследования и анализа данных, такие как конфокальная микроскопия, проточная цитометрия, секвенирование РНК, количественная ПЦР и биоинформатический анализ данных, а также современное научное оборудование. Все полученные диссертантом результаты позволили достичь поставленных цели и задач и полностью соответствуют научным положениям, выносимым на защиту. Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 5 научных статьях в рецензируемых изданиях, входящих в перечень ВАК РФ, Web of Science и Scopus, а также прошли апробацию на международных и всероссийских конференциях, по результатам которых опубликовано 14 тезисов. Таким образом, достоверность полученных научных результатов работы, степень обоснованности положений и заключения, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнения.

Общая характеристика, структура и оформление диссертации

Диссертационная работа Ломовской Я.В. написана по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, методов исследований, результатов экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитированной литературы. Работа изложена на 123 страницах, содержит 31 рисунок и 4 таблицы, список литературы включает 322 источника.

В главе «Введение» обосновывается актуальность выбранной темы, представлены цель, задачи, обозначены научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, практическая и теоретическая значимость работы, а также количество печатных материалов, опубликованных по теме диссертации.

В качестве цели диссертационной работы автор указывает изучение механизмов устойчивости клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели при дифференцировке в условиях гиперклеточного провоспалительного микроокружения *in vitro*. Для достижения поставленной цели были сформулированы три задачи, которые были успешно решены, что отражено в выводах.

Первая глава диссертационной работы «Обзор литературы» знакомит с современным состоянием проблемы, которой посвящено диссертационное исследование. Приводится общая характеристика заболевания – острого миелоидного лейкоза, его происхождение, классификация, а подходы к лечению этого заболевания. Подробно описывается широкий спектр биологической активности препаратов на основе TRAIL в отношении опухолевых клеток. Обсуждены основные трудности применения препаратов на основе TRAIL в лечении онкологических заболеваний и описаны механизмы устойчивости опухолевых клеток к действию TRAIL, основанные на изменчивой динамике TRAIL-рецепторов.

Вторая глава работы «Материалы и методы» содержит подробное описание проведенных экспериментальных исследований, включая информацию об изучаемых объектах и использованных современных молекулярно-биологических и физико-химических методах.

Результаты исследований и их обсуждение изложены в обширной третьей главе, включающей 5 подразделов. Изложение результатов и их обсуждение построены логично, начиная с получения клеток ОМЛ, способных к адгезии и распластыванию на внеклеточном матриксе в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуры высокой плотности, через характеристику полученных клеток ОМЛ, анализ их устойчивости к TRAIL-индуцированной гибели, изучение механизмов данной устойчивости, заканчивая демонстрацией возможности подавления TRAIL-резистентности у дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ. Результаты диссертационного исследования подвергнуты тщательному обсуждению, в котором приведена аргументированная интерпретация результатов в соответствии с данными, приведёнными в современной литературе по рассматриваемой проблеме.

В финальной главе – «Заключение» – Ломовская Я.В. обобщает полученные результаты, приводя лаконичную гипотетическую схему, раскрывающую механизм резистентности макрофагоподобных клеток ОМЛ к

TRAIL-индуцированной гибели. Диссертационное исследование завершается выводами, соответствующими поставленной цели и задачам, а их достоверность сомнения не вызывает.

Суммируя, необходимо отметить, что диссертационная работа Ломовской Яны Владимировны заслуживает высокой оценки. Грамотное использование современных методов исследований, их широкий диапазон вместе с тщательно проведёнными экспериментальными исследованиями и тщательным анализом полученных данных, позволил Ломовской Я.В. получить крайне важные с научной и практической точки зрения результаты и достичь высокого уровня достоверности и значимости всех результатов диссертационной работы.

Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Вопросы, пожелания и замечания

По сути диссертационной работы Ломовской Я.В., по оформлению и представлению полученных результатов, также как и по стилю текста работы замечаний нет. Все материалы представлены чётко, логично и интересно.

Хотелось бы услышать мнение автора в отношении двух дискуссионных вопросов.

1. При str-анализе было показано, что локус AMEL у родительских клеток ТНР-1 несёт форму XY, а в случае с клетками ТНР-1ad для AMEL показана форма XX. Поясните пожалуйста, как такое могло произойти?

2. Как Вы думаете, какие ещё интегрины, помимо описанных, могут принимать участие в адгезии клеток ТНР-1ad к ВКМ помимо исследованных?

Заключение

Диссертационная работа Ломовской Яны Владимировны «Резистентность клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированной гибели при дифференцировке в условиях гиперклеточного провоспалительного микроокружения» по своей актуальности, новизне,

уровню проведенных исследований и практической значимости полностью отвечает всем требованиям пп. 11, 13 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016г. № 748; от 29.05.2017 г. №650; от 20.03.2021 г. №426; от 26.10.2023 № 1786), предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Ломовская Я.В., заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор биологических наук по специальности 14.01.12. – Онкология, руководитель группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Богущ Т.А.

02 мая 2024 г.

Адрес: 115478 г. Москва, Каширское шоссе, 24 к2

Телефон: +7(499)324-18-64

E-mail - tatbogush@mail.ru

Подпись профессора Богущ Т. А. заверяю.

Ученый секретарь НИИ ЭДиТО

ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России

канд. биол. наук



А.Е. Бармашов

Председателю совета по защите диссертаций на
соискание ученой степени кандидата наук, на
соискание ученой степени доктора наук 24.1.232.01
(Д 002.285.01) на базе ФГБУН «Федеральный
исследовательский центр «Пущинский научный
центр биологических исследований Российской
академии наук»
чл.-корр. РАН Фесенко Е.Е.

ЛИЧНОЕ СОГЛАСИЕ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Я, Богущ Татьяна Анатольевна, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор биологических наук (14.01.12. - Онкология), руководитель группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, даю свое согласие выступить в качестве оппонента по диссертации Ломовской Яны Владимировны на тему: «Резистентность клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированной гибели при дифференцировке в условиях гиперклеточного провоспалительного микро-окружения» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – «Клеточная биология».

Согласна на включение моих персональных данных в аттестационное дело и дальнейшую их обработку, необходимую на основании нормативных документов Правительства, Минобрнауки и ВАК, на размещение их в сети Интернет на сайте ФИЦ ПНЦБИ РАН, на сайтах ВАК, в Единой информационной системе.

Не являюсь членом экспертного совета ВАК.

Сведения об официальном оппоненте

Название специальности и шифр - 14.01.12. – Онкология

Ученая степень: доктор биологических наук

Ученое звание: профессор

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), адрес: 115478 г. Москва, Каширское шоссе, 24 к2

Должность: руководитель группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Телефон: +7(499)324-18-64

E-mail - tatbogush@mail.ru

Публикации по теме оппонируемой диссертации

1. **Богущ Т.А.**, Поцелуева П.Д., Щербаков А.М., Богущ Е.А., Равчеева А.Б., Вихлянцева Н.О., Косоруков В.С. Ассоциация экспрессии эстрогеновых рецепторов бета с показателем пролиферативной активности Ki-67 в ткани рака молочной железы. Антибиотики и химиотерапия. 2023. Т. 68. № 3-4. С. 39-45.
2. Scherbakov A.M., Basharina A.A., Sorokin D.V., Mikhaevich E.I., Mizaeva I.E., Mikhaylova A.L., **Bogush T.A.**, Krasil'nikov M.A. Targeting hormone-resistant breast cancer cells with docetaxel: a look inside the resistance. Cancer Drug Resist. 2023. Vol.6. № 1. P. 103–115.
3. Apanovich N.V., Apanovich P.V., Mansorunov D.J., Kuzevanova A.Y., Korotaeva A.A., Karpukhin A.V., **Bogush T.A.**, Matveev V.B. Panel of Candidate Genes to Predict the Survival of Patients with Clear Cell Renal Cancer on the Basis of Gene Expression Regulated by HIF1 α /HIF2 α . Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2022. Vol. 172. № 6. P. 738-742.
4. **Bogush T.A.**, Basharina A.A., Safarov Z.M., Mizaeva I.E., Grishanina A.N., Bogush E.A., Gridneva Ya.V., Volkova M.I., Matveev V.B., Kosorukov V.S. Molecular Diagnostics of the Involvement of Visually Normal Mucosa in the Malignancy Process in Urothelial Bladder Cancer. Molecular Biology. 2022. Vol. 56. № 4. P. 592-599.
5. Mikhaylova A.L., Basharina A.A., Sorokin D.V., Buravchenko G.I., Samsonik S.A., **Bogush T.A.**, Scherbakov A.M. Low glucose sensitizes A431 skin cancer cells to metformin treatments: A way forward to targeting PD-L1. Annals of Oncology. 2021. Vol. 32. № S6. P. S1360.
6. **Bogush T.A.**, Basharina A.A., Bogush E.A., Davydov M.M., Scherbakov A.M., Kosorukov V.S. The expression and clinical significance of ER β /ER α in ovarian cancer: can we predict the effectiveness of platinum plus taxane therapy? Irish Journal of Medical Science. 2021. Vol.191. P. 2047–2053.
7. Михайлова А.Л., Башарина А.А., Сорокин Д.В., Буравченко Г.И., Самсоник С.А., **Богущ Т.А.**, Щербаков А.М. Уровень глюкозы модулирует ингибирующие эффекты метформина в клетках эпидермоидной карциномы А431. Успехи молекулярной онкологии. 2021. № 4. С. 29.
8. **Bogush T.A.**, Basharina A.A., Eliseeva B.K., Kaliuzhny S.A., Bogush E.A., Kirsanov V.Y., Davydov M.M., Kosorukov V.S. A new approach to epithelial–mesenchymal transition diagnostics in epithelial tumors: double immunofluorescent staining and flow cytometry. BioTechniques. 2020. Vol. 69. № 4. P. 257-263.
9. Башарина А.А., **Богущ Т.А.**, Рукавишников Е.А., Богущ Е.А., Калюжный С.А., Вихлянцева Н.О., Косоруков В.С. Сходимость и временная стабильность количественной оценки экспрессии белка β III-тубулина в ткани солидных опухолей. Российский биотерапевтический журнал. 2020. Т. 19. № 3. С. 52-56.
10. Мансорунов Д.Ж., Алимов А.А., Апанович Н.В., Кузеванова А.Ю., **Богущ Т.А.**, Стилиди И.С., Карпухин А.В. Иммуноterapia рака желудка. Российский биотерапевтический журнал. 2019. Т. 18. № 4. С. 6-16.

11. Scherbakov A.M., Shestakova E.A., Galeeva K.E., **Bogush T.A.** BRCA1 and Estrogen Receptor α Expression Regulation in Breast Cancer Cells. Molecular Biology. 2019. Vol. 53. № 3. P. 442-451.
12. **Богуш Т.А.**, Самсоник С.А., Башарина А.А., Богуш Е.А., Рябина О.М., Гришанина А.Н., Кирсанов В.Ю., Карпухин А.В., Косоруков В.С. Корреляция количественных показателей экспрессии эстрогеновых рецепторов α и β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания. Антибиотики и химиотерапия. 2021. Т. 66. № 5-6. С. 23-29.

16 апреля 2024 г.

Богуш

/Т.А.Богуш/

Подпись профессора Богуш Т. А. заверяю.

Ученый секретарь НИИ ЭДиТО

ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России

канд. биол. наук

А. Е. Бармашов/

