

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Сенотова Анатолия Сергеевича «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – «Клеточная биология»

Диссертационная работа Сенотова Анатолия Сергеевича посвящена важной проблеме современной медицины – устойчивости опухолевых клеток человека к химиотерапевтическим агентам и, в частности, устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) в трехмерных культурах высокой плотности к рецептор-опосредованному апоптозу, индуцированному цитокином TRAIL и его трансмембранными DR4 и DR5 рецепторами. В настоящее время основными подходами для преодоления резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическим агентам являются расширение ассортимента искусственных и природных биологически активных соединений с выраженной противоопухолевой активностью, а также выявление собственно молекулярных механизмов развития резистентности клеток опухоли для дальнейшей таргетной терапии, последнему подходу и посвящена актуальная диссертационная работа автора.

Научная новизна рассматриваемой работы не вызывает сомнений, поскольку автором впервые *in vitro* показано, что резистентность клеток ОМЛ в культурах высокой плотности к цитотоксическому действию основного молекулярного эффектора противоопухолевого иммунного надзора TRAIL является обратимой. Выявлено, что механизм данного вида резистентности ОМЛ в культурах высокой плотности, регулируется TNF- $\alpha$  и фактором транскрипции NF- $\kappa$ B и основан на увеличении экспрессии опухолевыми клетками генов антиапоптотических белков (IAP, Bcl-2), которые блокируют развитие естественных процессов гибели клетки и обеспечивают ее выживание. Обнаружено, что клетки ОМЛ,

культивируемые как культуры высокой плотности, экспрессируют на своей поверхности существенно меньше DR4 и DR5 рецепторов к TRAIL, белку противоопухолевого иммунного надзора. Кроме того, в клетках ОМЛ, формирующих культуры с высокой плотностью происходит снижение экспрессии проапоптотического адапторного белка FADD, обеспечивающего образование сигнального комплекса с прокаспазами и естественную гибель клетки. Автором установлено, что развитие данного вида резистентности ОМЛ в культурах высокой плотности не обусловлено недостаточной проницаемостью TRAIL к клеткам внутри опухолевого конгломерата. Впервые в экспериментах *in vitro* показано, что инактивация антиапоптотических белков семейства Bcl-2 (Bcl-xL, Bcl-w) препаратом «Navitoclax» снижает резистентность клеток ОМЛ в культурах высокой плотности к рецептор-опосредованному апоптозу, индуцированному TRAIL. Результаты диссертационной работы, позволили автору сформулировать и представить на молекулярном уровне гипотетическую модель развития резистентности опухолевых клеток человека к TRAIL-индуцированному апоптозу.

В работе поставлена четкая цель и обозначены задачи, позволившие автору успешно провести законченное исследование – изучение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза человека к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности *in vitro*. Автор хорошо ориентируется в современных научных представлениях о механизмах индукции и развития апоптоза, молекулярной биологии клеток острого миелоидного лейкоза человека, в частности, опухолевых клеток линии ТНР-1, владеет современными методами исследований (биофизические методы, методы клеточной и молекулярной биологии), обнаруживает выраженную способность к анализу и логичной интерпретации полученных результатов. Наиболее значимыми практическими результатами научно-исследовательской работы являются идентификация молекулярных участников развития резистентности у клеток

ОМЛ в культурах высокой плотности, а также выявление возможности эффективно снижать данную разновидность резистентности опухолевых клеток посредством противовоспалительного препарата «Navitoclax».

Автореферат структурирован по классическому утвержденному образцу, содержит все составляющие разделы, написан научным языком и хорошо иллюстрирован. Данные получены с использованием современных материалов, подходов и методов. Анализ результатов, полученных в диссертационной работе, сопровождается авторскими примечаниями, пояснениями и ссылками на данные современных литературных источников. Выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Результаты работы опубликованы в ведущих отечественных и зарубежных рецензируемых изданиях и апробированы на российских и международных конференциях.

Несмотря на то, что информация в автореферате изложена четко и последовательно, в дальнейшем необходимо избегать повторений в изложении материала. Например, «Методологической основой диссертационного исследования выступают методы аналогии и моделирования, используемые для научного познания процессов и явлений, происходящих в организме человека», что можно объединить с последующим абзацем «Методологической основой для решения поставленных задач и достижения целей исследования были методы биофизики и клеточной и молекулярной биологии и т.д.». Классические методы исследования лучше упоминать первыми и, затем, остальные. В сокращении названия фактора транскрипции NF- $\kappa$ B используется греческая буква каппа. Высказанные пожелания, однако, ничуть не приуменьшают достоинства представленного научного исследования.

Представленная Сенотовым Анатолием Сергеевичем диссертационная работа «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности» является законченным научным трудом и соответствует

требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук и отраженным в «Положении о присуждении ученых степеней» (п.п. 9-14, утверждено постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 20.03.2021 г. № 426), а ее автор, Сенотов Анатолий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – «Клеточная биология».

Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий  
ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института  
лекарственных и ароматических растений»  
117216 Россия, г. Москва, ул. Грина д. 7, строение 1.

кандидат биологических наук

Кабанов Дмитрий Сергеевич

Тел.: +7(925) 276-45-59

e-mail: kabanovd1@rambler.ru

Специальность 03.00.04. – «биохимия»

Подпись Кабанова Д.С.

Заверяю:

кандидат фармацевтических наук, ученый  
секретарь «Всероссийского научно-  
исследовательского института  
лекарственных и ароматических  
растений»,

Семкина Ольга Александровна

Дата 22.11.2023 года



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сенотова Анатолия Сергеевича на тему  
«Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-  
индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.22. – Клеточная биология

В диссертационной работе Сенотова Анатолия Сергеевича проведено исследование повышения резистентности клеток острого миелоидного лейкоза в высокоплотной клеточной культуре к апоптозу, индуцированному противоопухолевым цитокином TRAIL. Исследование выполнено с использованием современных методов и технологий. Сенотовым А.С. впервые показано повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в условиях высокоплотной клеточной культуры. Данное повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза является обратимым процессом и не связано с изменением проникновения исследуемого цитокина в структуру высокоплотной культуры. Автором достаточно подробно обоснован механизм устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в условиях трехмерной высокоплотной клеточной культуры, приведены данные об активации провоспалительных сигнальных путей. В диссертационной работе показана принципиальная возможность регулирования резистентности с помощью фармакологических соединений, таких, как, например, ВНЗ миметика Навитоклакса. Как стероидные гормоны глюкокортикоиды, так и классические НПВС в данном направлении оказались неэффективными.

В автореферате содержатся все необходимые структурные части. Автореферат написан научным языком и хорошо иллюстрирован. Получение и анализ экспериментальных данных выполнен на хорошем уровне со всеми необходимыми пояснениями. Представленные в работе выводы четко обоснованны и подтверждаются результатами экспериментов. Результаты работы опубликованы в ведущих российских и зарубежных рецензируемых изданиях, а также доложены на российских и международных конференциях.

Диссертационная работа Сенотова А.С. «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности» является законченным научным трудом и

соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук и отраженным в «Положении о присуждении ученых степеней» (п.п. 9-14, утверждено постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 20.03.2021 г. № 426), а ее автор, Сенотов Анатолий Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. - Клеточная биология.

Главный научный сотрудник  
научно-исследовательской лаборатории  
молекулярной фармакологии  
НИИ трансляционной медицины  
ФГАОУ ВО РНИМУ им.  
Н.И. Пирогова МЗ РФ  
доктор медицинских наук  
(14.03.06 — фармакология,  
клиническая фармакология)

Федотчева Татьяна Александровна

117997, г. Москва,  
ул. Островитянова, дом 1  
Тел. 8-916-935-31-96  
E-mail: [tfedotcheva@mail.ru](mailto:tfedotcheva@mail.ru)

Подпись д.м.н. Т.А. Федотчевой заверяю:

Ученый секретарь ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России, к.м.н., доцент



О.М. Демина

Адрес: 117997 г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, телефон: (495) 434-03-29;  
электронная почта: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru)

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сенотова Анатолия Сергеевича на тему  
«Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-  
индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.22. – Клеточная биология

В диссертационной работе Сенотова Анатолия Сергеевича представлено исследование феномена и основных молекулярных механизмов повышения устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу, культивируемых в трехмерных высокоплотных структурах *in vitro*. Сенотовым А.С. впервые показан и охарактеризован феномен возникновения устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза в трехмерных высокоплотных клеточных культурах к апоптоз-индуцирующему действию цитокина TRAIL. В работе убедительно показано, что данное повышение устойчивости не зависит от особенностей доступа цитокина TRAIL вглубь многоклеточной трехмерной структуры. В работе представлен молекулярный механизм устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к цитотоксическому действию TRAIL в высокоплотных клеточных культурах. Показано, что в основе данного механизма лежит ФНО- $\alpha$ -зависимая активация сигнальных путей, в том числе антиапоптотических, находящихся под контролем транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B.

Диссертационная работа имеет интерес как с точки зрения фундаментальных подходов для изучения основных принципов межклеточных взаимодействий у клеток гемопоэтического происхождения, так и в контексте развития новых подходов в лечении злокачественных новообразований системы кроветворения.

В автореферате представлены все необходимые части. Автореферат написан понятным языком и достаточно полно иллюстрирован. Экспериментальные данные получены с помощью современных методов молекулярной клеточной биологии и биоинформатики. Анализ данных представлен достаточно полно и основан на использовании современных литературных источников. Выводы, сделанные в диссертационной работе, обоснованны и подтверждены экспериментальными данными. Результаты работы опубликованы в ведущих российских и зарубежных рецензируемых изданиях и доложены на международных и российских конференциях.

Диссертационная работа Сенотова А.С. «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности» является законченным научным трудом и соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук и отраженным в «Положении о присуждении ученых степеней» (п.п. 9-14, утверждено постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 20.03.2021 г. № 426), а ее автор, Сенотов Анатолий Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. - Клеточная биология.

Заведующая лабораторией фармакологических  
активных соединений

Научно-исследовательский институт  
клинической и экспериментальной  
лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН

Кандидат биологических наук

630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

тел.: +7 (383) 333-64-09

e-mail: [solovevaao@yandex.ru](mailto:solovevaao@yandex.ru)

Соловьева Анастасия Олеговна

16.11.2023

Личную подпись	
Начальник отдела кадров:	
	Н.С. Борисова
	16.11.2023 г.



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сенотова Анатолия Сергеевича на тему  
«Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-  
индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности», представленной  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.22. – Клеточная биология

Диссертационная работа Сенотова Анатолия Сергеевича посвящена изучению повышения устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) человека в трехмерной высокоплотной клеточной культуре (ВПК) к TRAIL-индуцированному апоптозу. Работа выполнена на клеточных линиях ОМЛ. Автором впервые показано обратимое повышение устойчивости пролиферирующих лейкозных клеток в ВПК к действию цитотоксического лиганда TRAIL в тримеризованной форме. Кроме того, повышение устойчивости клеток ОМЛ в ВПК к TRAIL-индуцированному апоптозу не связано с нарушением проникновения *iz*TRAIL к клеткам во внутренних слоях ВПК *in vitro*. Повышение устойчивости не зависит также непосредственно от количества клеток, а формируется в процессе культивирования. Автором впервые показан новый механизм повышения устойчивости клеток ОМЛ в ВПК к действию TRAIL, основанный на формировании ответа подобного воспалительному в опухолевых клетках, вследствие активации сигнального каскада ФНО- $\alpha$  с дальнейшей реализацией через фактор транскрипции NF- $\kappa$ B и увеличения синтеза антиапоптотических белков Bcl-2 и Livin. Устойчивость клеток ОМЛ в ВПК к действию цитотоксического лиганда TRAIL может преодолеваться при применении ингибиторов антиапоптотических белков семейства Bcl-2. Результаты диссертационной работы Сенотова А.С. вносят большой вклад в развитие фундаментальной науки, но и имеют важное прикладное значение для медицины и могут быть использованы при разработке новых стратегий в терапии острого миелоидного лейкоза.

Автореферат содержит все необходимые структурные элементы, написан понятным научным языком и хорошо иллюстрирован. Экспериментальные данные получены при применении актуальных и современных методов клеточной биологии, с помощью хорошо оснащенной приборной базы и программного обеспечения. Анализ экспериментальных данных сопровождается соответствующими авторскими примечаниями, пояснениями и ссылками на современные литературные источники. Представленные в работе выводы являются обоснованными и подтверждаются соответствующими экспериментальными данными. Результаты работы опубликованы в ведущих российских и зарубежных

рецензируемых ВАК изданиях и апробированы на российских и международных конференциях.

В качестве замечаний и рекомендаций можно отметить, что в автореферате много сокращений которые не все расшифровываются. Приведенные вопросы и рекомендации не умаляют актуальности и научной значимости исследования Сенотова Анатолия Сергеевича. В соответствии с объемом полученных экспериментальных данных, высоким методическим уровнем и актуальностью полученных результатов представленная Сенотовым А.С. диссертационная работа «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности» является законченным научным трудом и соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук и отраженным в «Положении о присуждении ученых степеней» (п.п. 9-14, утверждено постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 20.03.2021 г. № 426), а ее автор, Сенотов Анатолий Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. - Клеточная биология.

Заведующий лабораторией окислительного стресса

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт теоретической и экспериментальной биофизики

Российской академии наук (ИТЭБ РАН)

Адрес: Россия, 142290 Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, д. 3.

доктор биологических наук

Тел.: +7(916) 600-58-08

e-mail: ykorystov@rambler.ru

Специальность 1.5.1. – «Радиобиология»

Корыстов Юрий Николаевич



Подпись Корыстова Ю.Н.

Заверяю:

к.б.н., ученый секретарь ИТЭБ РАН,

Перевязова Т.А.

Дата 2.10.2023

