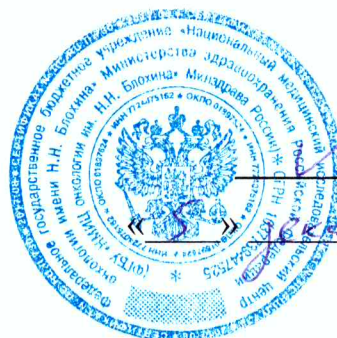


«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по научной и
инновационной работе ФГБУ «НМИЦ
онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава
России, д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН

Матвеев В.Б.



Ср 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национального
медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную
работу Сенотова Анатолия Сергеевича «Повышение резистентности клеток
острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в
трехмерных культурах высокой плотности» на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Актуальность диссертационной темы

Диссертационная работа Сенотова А.С. посвящена установлению
молекулярных механизмов, приводящих к изменению устойчивости клеток
острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) в трехмерных высокоплотных
клеточных культурах к TRAIL-индуцированному апоптозу, а также поиску
путей ее подавления.

Острый миелоидных лейкоз является одним из злокачественных
новообразований, для которых не разработана эффективная
противоопухолевая терапия. Согласно федеральным стандартам, основным
способом лечения ОМЛ остается химиотерапия, обладающая высокой общей

токсичностью и крайне низкой эффективностью. Как правило, основной причиной низкой эффективности терапии является устойчивость опухолевых клеток к цитостатическим и цитотоксическим препаратам в патологически измененном костном мозге, который по мере накопления лейкозных бластов становится гиперклеточным, где может сохраняться минимальная остаточная болезнь. Поэтому поиск новых стратегий и препаратов для терапии ОМЛ является актуальной задачей для исследователей. Одним из перспективных подходов к терапии ОМЛ, является создание противоопухолевых препаратов, на основе лиганда TRAIL, экспрессируемого иммунокомпетентными клетками. В тоже время препараты данного класса зачастую не проявляют ожидаемой цитотоксичности, в том числе из-за формирования резистентности. Выяснение механизмов формирования устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу и поиск способов подавления резистентности клеток ОМЛ является актуальной современной задачей. Актуальным является и применение трехмерных клеточных культур для моделирования гиперклеточного состояния лейкозных клеток в костном мозге *in vitro*.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Сенотова А.С. посвящённой изучению механизмов повышения устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза в трехмерных высокоплотных клеточных культурах к TRAIL-индуцированному апоптозу и поиску путей ее подавления, не вызывает сомнений.

Научная новизна работы и полученных результатов

В работе впервые показано, что в *in vitro* модели гиперклеточного состояния лейкозных клеток происходит обратимое повышение устойчивости к TRAIL-индуцированной гибели, не связанное напрямую с количеством клеток и трехмерным расположением. Установлено, что повышение устойчивости не связано с ограничением поступления цитотоксического лиганда TRAIL к клеткам, расположенным в глубоких

слоях. Методами биоинформатики показано, что устойчивость формируется в условиях активации внутриклеточных сигнальных путей ассоциированных с воспалительным ответом. Установлено, что основным регулятором провоспалительной активации выступает ФНО- α , при этом происходит повышение экспрессии антиапоптотических белков семейств Bcl-2 и IAP, находящихся под контролем транскрипционного фактора NF- κ B. В работе показана возможность подавления устойчивости клеток ОМЛ к действию цитотоксического лиганда TRAIL с помощью ВНЗ миметика Navitoclax, ингибитора антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе Сенотова А.С., подтверждаются большим объемом экспериментальных исследований и соотносятся с современными представлениями.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современного оборудования и методов исследования, необходимым количеством повторов экспериментов. Для обработки результатов были использованы общепринятые статистические методы.

Значимость результатов для соответствующей области науки и рекомендации по использованию результатов и выводов

Научная значимость результатов, представленных в диссертационной работе Сенотова А.С., заключается в определении отдельных молекулярных механизмов, способствующих формированию устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к действию цитотоксического лиганда TRAIL в высокоплотных клеточных культурах, моделирующих состояние лейкозных клеток в костном мозге. Представленные данные о возможности эффективного ингибирования устойчивости к действию TRAIL с помощью

Navitoclax, могут найти дальнейшее применение в разработке новых подходов в терапии острого миелоидного лейкоза.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа логично выстроена, написана грамотно и в полной мере соответствует требованиям ВАК по оформлению, изложению материала и объему, предъявляемым к структуре кандидатских диссертаций.

Диссертация изложена на 132 страницах, содержит 26 рисунков и 3 таблицы. Содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, заключение, выводы, список цитируемой литературы (включающий 296 работ, из них 288 зарубежных) и список сокращений.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, определена цель исследования и сформулированы необходимые для ее достижения задачи, выносимые на защиту положения, отражена научная новизна и практическая значимость работы, описан личный вклад автора.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором представлены современные сведения о эпидемиологии, этиологии, патогенезе, классификации и прогностических факторах в терапии острого миелоидного лейкоза, возможных механизмах, приводящих к формированию устойчивости опухолевых клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу и возможных путях ее преодоления. Отображены современные представления о цитокине TRAIL и его сигнальных путях.

Во второй главе «Материалы и методы» подробно описаны используемые реактивы, приборы и методы исследования. В работе использовались современные экспериментальные методы клеточной биологии, биофизики, биохимии и биоинформатики.

В третьей главе «Результаты и обсуждения» логически выстроено описание полученных результатов исследования. В данной главе отражена экспериментальная работа, проделанная автором, которая, несомненно,

представляет фундаментальный интерес и имеет прикладное значение. Кроме того, в каждом разделе главы проведен анализ полученных результатов и их интерпретация, сопровождающаяся ссылками на литературные источники.

В заключении автор обобщает полученные результаты и прилагает принципиальную схему гипотетического механизма приводящего к повышению устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к действию цитотоксического лиганда TRAIL. Выводы отражают основные положения диссертации, логически следуют из анализа экспериментальных данных и соответствуют поставленным задачам.

В автореферате, изложенном на 25 страницах, отражается основное содержание диссертации и выводы, а также приводится список публикаций, которые отражают основное содержание работы. Материалы диссертации прошли широкую апробацию на конференциях всероссийского и международного уровня.

Работа соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.22. Клеточная биология, направления исследования п. 13 (в части: изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели), п. 19 (в части: создание клеточных моделей различных заболеваний) и п. 22 (в части: разработка и применение новых экспериментальных моделей и методов культивирования клеток необходимых для проведения исследований в области клеточной биологии).

Вопросы, рекомендации и замечания

Несмотря на в целом высокую оценку, к диссертационной работе есть несколько вопросов и замечаний.

1. Ряд разделов обзора литературы излишне дробные и не содержат фактической информации. Например, раздел 1.7.1. «Генетическая гетерогенность» не раскрывает, какие механизмы формирования генетической гетерогенности лежат в основе индукции резистентности к TRAIL.

2. В главе «Материалы и методы» отсутствует методика определения содержания cPARP(Asp214) в клетках.

3. В подписи к рисунку 11, представленном в автореферате, и рисунку 22, представленном в диссертационной работе, отсутствует расшифровка обозначений «#» и «§».

4. В работе показано, что «Повышение TRAIL-резистентности у клеток ОМЛ в трехмерных высокоплотных культурах регулируется активацией TNF-NF- κ B зависимых сигнальных путей», в связи с чем возникает вопрос: проводились определение поверхностной экспрессии TNF-рецепторов на клетках, а также определение содержания цитокина TNF- α в культуральной среде резистентных и чувствительных к действию TRAIL клеток?

Вместе с тем, приведенные замечания не снижают научную и практическую значимость работы и не влияют на ее положительную оценку.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Сенотова Анатолия Сергеевича на тему «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача, раскрывающая механизмы устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза к иммунобиологическим препаратам и компонентам иммунного надзора. Данное исследование имеет, как прикладное значение для развития здравоохранения в области иммунотерапии злокачественных новообразований, так и фундаментальное значение для биологической науки, раскрывающее особенности физиологических изменений в опухолевых клетках на молекулярно-генетическом уровне.

Диссертационная работа соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных 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 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждение искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании учёного совета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 9 от «21» ноября 2023 г.).

Директор НИИ экспериментальной
диагностики и терапии опухолей ФГБУ
«НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»
Минздрава России,
кандидат биологических наук

Косоруков Вячеслав
Станиславович

Подпись к.б.н. Косорукова В.С. заверяю:
Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии
имени Н.Н. Блохина» Минздрава России,
кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина
Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24
телефон: 8 (499) 324-24-24
эл. почта: info@ronc.ru
сайт: <https://www.ronc.ru>

В диссертационный совет Д 24.1.323.01, созданный на базе Федерального государственного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»»

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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

Полное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сокращенное наименование в соответствии с уставом	ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России
Ведомственная принадлежность	Министерство здравоохранения Российской Федерации
Почтовый индекс, адрес организации	115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	https://www.ronc.ru
Телефон	8 (499) 324-24-24
Адрес электронной почты	info@ronc.ru
Фамилия Имя Отчество ученой степень, ученое звание, должность руководителя ведущей организации	Стилиди Иван Сократович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России.
Фамилия Имя Отчество лица, утвердившего отзыв ведущей организации должность, ученая степень, ученое звание, должность и полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Матвеев Всеволод Борисович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора (НМИЦ) по научной и инновационной работе, заведующий отделением онкоурологии. ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России.
Фамилия Имя Отчество лица, составившего отзыв ведущей организации, ученая степень (шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация), ученое звание, должность	Косоруков Вячеслав Станиславович, кандидат биологических наук (03.00.23 – Биотехнология), директор НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России
Список основных	1. Богуш Т.А., Башарина А.А., Щербаков А.М., Чандрян

публикаций сотрудников ведущей организации	<p>К.И., Михайлова А.Л., Романов И.П., Богуш Е.А., Косоруков В.С. Панель культур опухолевых клеток с охарактеризованной экспрессией белка PD-L1 для доклинической оценки взаимодействия противоопухолевых препаратов с ингибиторами контрольных точек иммунитета // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2023. Т. 64. № 1. С. 26-34.</p> <p>2. Abzianidze V., Suponina D., Zakharenkova S., Rogovskaya N., Krivorotov D., Bogachenkov A., Ukolov A., Moiseeva N., Laletina L., Holder A., Garabadzhiu A., Kosorukov V. Natural phaeosphaeride a derivatives overcome drug resistance of tumor cells and modulate signaling pathways // Pharmaceuticals. 2022. Т. 15. № 4.</p> <p>3. Вартанян А.А., Хоченкова Ю.А., Кособокова Е.Н., Барышникова М.А., Косоруков В.С. CD437 снижает метастатический потенциал клеток меланомы // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2021. Т. 62. № 4. С. 333-340.</p> <p>4. Вартанян А.А., Косоруков В.С. Роль интерлейкинов и воспаления в развитии рака. связь с обменом железа. обзор // Иммунология гемопоза. 2021. Т. 19. № 1-2. С. 55-78.</p> <p>5. Богуш Т.А., Маяк М.А., Сапрыкина Н.С., Башарина А.А., Рябинина О.М., Гришанина А.Н., Богуш Е.А., Каменский А.А., Косоруков В.С. Экспериментальная проверка гипотезы о возможности молекулярной диагностики локальной распространенности опухоли на модели рака легкого Льюис // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2021. Т. 62. № 4. С. 341-347.</p> <p>6. Жукова О.С., Киселевский М.В., Фетисова Л.В., Борисова Л.М., Малахова Н.В., Киселева М.П. Сравнительное исследование цитотоксической активности новых нитрозильных железо-серных комплексов на опухолевых клетках человека <i>in vitro</i> // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2020. № 1. С. 12-19.</p> <p>7. Вартанян А.А., Хоченков Д.А., Кособокова Е.Н., Косоруков В.С. О взаимосвязи аутофагии и апоптоза в гибели клеток карциномы легкого А549, индуцированной CD437 // Российский биотерапевтический журнал. 2020. Т. 19. № 4. С. 65-73.</p> <p>8. Трещалина Е.М., Михайлова И.Н., Киселевский М.В. Различные роли ТОЛЛ-подобных рецепторов в онкотерапии // Российский биотерапевтический журнал. 2019. Т. 18. № 3. С. 15-22.</p> <p>9. Косоруков В.С., Барышникова М.А., Кособокова Е.Н., Яковишина Д.Ю., Ершова А.С., Пеков Ю.А. Выявление</p>
--	---

	<p>иммуногенных мутантных неоантигенов в геноме меланомы мышей // Российский биотерапевтический журнал. 2019. Т. 18. № 3. С. 23-30.</p> <p>10. Богуш Т.А., Калюжный С.А., Четыркина М.Р., Ястребова М.А., Щербаков А.М., Рябина О.М., Мамичев И.А., Богуш Е.А., Каменский А.А. Молекулярные механизмы лекарственной резистентности клеток рака молочной железы линии MCF7/ADR // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2018. Т. 59. № 5. С. 374-376.</p> <p>11. Тырсина Е.Г., Никулицкий С.И., Иншаков А.Н., Рябая О.О. VEGF-R1 как потенциальная молекулярная мишень для противоопухолевой терапии // Доклады Академии Наук (Биохимия, биофизика, молекулярная биология). – 2018. – Т. 478, № 2. – С. 236 – 239</p> <p>12. Мисюрин В.А. Клиническое значение экспрессии гена PRAME при онкогематологических заболеваниях // Клиническая онкогематология. 2018. – Т. 11, №1. – С. 26 – 33.</p> <p>13. Кипкеева Ф.М., Музаффарова Т.А., Никулин М.П., Аланович П.В., Неред С.Н., Нариманов М.Н., Малихова О.А., Богуш Т.А., Стилиди И.С., Карпухин А.В. Ассоциация экспрессии генов основных сигнальных путей развития рака желудка с его метастазированием // Российский биотерапевтический журнал. 2018. Т. 17. № 4. С. 106-110.</p> <p>14. Пономарев А.В., Солодовник А.А., Мкртчян А.С., Финашутин Ю.П., Турба А.А., Мисюрин В.А., Мисюрин А.В., Барышникова М.А. Связь делеций и точечных мутаций гена p53 с резистентностью клеточных линий метастатической меланомы кожи человека к аранозе // Российский биотерапевтический журнал. – 2018. – Т. 17, №1. – С. 64 – 69.</p>
--	---

Ведущая организация подтверждает, что соискатель ученой степени и его научный руководитель не являются ее сотрудниками, а также в ведущей организации не ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или работником организации-заказчика, или исполнителем (соискателем).

Даем согласие на размещение персональных данных на официальном сайте ФИЦ ПБНЦБИ РАН и в единой информационной системе, включение персональных данных в аттестатное дело и их дальнейшую обработку.

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии
имени Н.Н. Блохина» Минздрава России,
кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна