

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
24.1.232.01 (Д 002.285.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «ПУЩИНСКИЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета

от 21 декабря 2023 г. № 75

О присуждении гражданину Российской Федерации, Сенотову Анатолию Сергеевичу, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности» по специальности 1.5.22. – «клеточная биология» принята к защите 17 октября 2023 г. (протокол заседания № 71), диссертационным советом 24.1.232.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 142290 Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, д.3, приказ Минобрнауки России от 07 ноября 2019 года РФ №1069/нк, с изменениями, внесенными приказами Минобрнауки России № 118 от 24 февраля 2021, №561/нк от 3 июня 2021 г., № 24/нк от 28 января 2021 г. и № 1162/нк от 12 октября 2022 г..

Соискатель Сенотов Анатолий Сергеевич, 26 сентября 1978 года рождения, в 2007 г. окончил Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского с присуждением квалификации «Биолог» по специальности «Биология». В 2020 г. окончил очную аспирантуру Российской академии наук (РАН) на базе Института теоретической и экспериментальной биофизики (ИТЭБ) РАН по направлению 06.06.01 – Биологические науки с

присуждением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь». С 2015 года по настоящее время работает в лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН в должности научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН. Научный руководитель – кандидат биологических наук, Фадеев Роман Сергеевич, заведующий лабораторией фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН.

Официальные оппоненты:

1. Коваль Ольга Александровна - доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН;

2. Яголович Анна Валерьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории инженерии белка ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ России), в своём **положительном** отзыве, подписанном кандидатом биологических наук Косоруковым Вячеславом Станиславовичем, директором НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ России отметила, что диссертационная работа Сенотова А.С. является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача, раскрывающая механизмы устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) 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. По объему выполненных исследований, научному и методическому уровню их проведения, актуальности, новизне, значимости для науки и практики полученных результатов диссертационная работа «Повышение резистентности клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в трехмерных культурах высокой плотности», полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции от 26.09.2022), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор – Сенотов Анатолий Сергеевич – заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

Соискатель имеет 83 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации - 20 работ, общим объемом 3.7 печатных листа, из них 5 статей опубликованы в ведущих рецензируемых научных изданиях, которые включены в перечень ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций, в том числе иностранном журнале 1 квартиля, 15 тезисов в сборниках материалов всероссийских и международных конференций, 1 глава в монографии и 1 патент.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Kobyakova M., Y. Lomovskaya, A. Senotov, A. Lomovsky, V. Minaichev, I. Fadeeva, D. Shtatnova, K. Krasnov, A. Zvyagina, I. Odinkova, V. Akatov, R. Fadeev, The increase in the drug resistance of acute myeloid leukemia THP-1 cells in high-density cell culture is associated with inflammatory-like activation and anti-apoptotic Bcl-2 proteins, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, v. 23 (14), p. 7881. DOI: 10.3390/ijms23147881

2. М.И. Кобякова, Я.В. Евстратова, А.С. Сенотов; А.И. Ломовский, В.В. Минайчев, А.И. Звягина, М.Е. Соловьева, И.С. Фадеева, В.С. Акатов, Р.С. Фадеев,

Появление признаков дифференцировки и провоспалительного фенотипа у клеток острого миелоидного лейкоза THP-1 при повышении их TRAIL-резистентности в агрегатах *in vitro*, Биол. Мембраны, 2021, Т. 38 (1), с. 61–70. DOI: 10.31857/S0233475521010059

3. Р.С. Фадеев, М.Е. Соловьева, Д.А. Слядовский, С.Г. Захаров, И.С. Фадеева, А.С. Сенотов, Н.В. Долгих, А.К. Голенков, В.С. Акатов, Клеточная агрегация повышает лекарственную устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза, Биол. Мембраны, 2015. Т. 32. (2), - с. 125-134. DOI: 10.7868/S0233475515020061

4. Р.С. Фадеев, М.Е. Соловьева, Д.А. Слядовский, С.Г. Захаров, И.С. Фадеева, А.С. Сенотов, А.К. Голенков, В.С. Акатов, Ингибирование активации NF- κ B снижает устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в многоклеточных агрегатах, Биофизика, 2015, Т. 60 (6), с. 1146-1150.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах и текст не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

официального оппонента д.б.н. Коваль О.А. – отзыв положительный. Замечания: 1) уточняющего характера касательно морфологического описания культур высокой плотности, а также причин формирования трехмерных структур в культуре клеток ОМЛ, и однозначного отображения в модели такой структурой межклеточных взаимодействий клеток, находящихся в костном мозге; 2) отсутствие на рис. 19 первичных данных не позволяет понять, от какой популяции приведены значения СИФ? 3) не расшифровано само сокращение СИФ; 4) не понятно, почему уровень каспаз, белка FLIP и PARP оценивали методом вестерн блота, а уровень внутриклеточного Bcl-2 оценивали проточной цитометрией? 5) замечание редакционного характера.

Официального оппонента к.б.н. Яголович А.В. – отзыв положительный. Замечания рекомендательного характера: 1) добавить в работу обсуждение эффекта конститутивной устойчивости клеточной линии

KG-1; 2) уточняющего характера о различной роли рецепторов DR4 и DR5 в проведении сигнала TRAIL-индуцированного апоптоза; 3) уточнение о возможности запуска процесса дифференцировки у клеток в данных условиях эксперимента, и как он может влиять на формирование резистентности к TRAIL-индуцированному апоптозу; 4) можете ли вы предположить почему блокирование апоптоза происходит на разных этапах в клетках в ВПК и обработанных ЛПС? 5) Редакционного характера.

Ведущей организации - отзыв положительный. Замечания: 1) излишне дробные разделы обзора литературы 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 гл. «Материалы и методы» не описана методика определения содержания cPARP(Asp214) в клетках; 3) нет расшифровки обозначений «#» и «§» в подписях к рисункам; 4) вопрос уточняющего характера о том, проводилось ли определение поверхностной экспрессии TNF-рецепторов на клетках, а также как определяли содержание цитокина TNF-а в культуральной среде резистентных и чувствительных к действию TRAIL клеток?

Положительные отзывы на автореферат представили:

1. к.б.н. Кабанов Д.С., ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Замечания: 1) редакционного и рекомендательного характера по представлению материала и методов исследования.

2. д.м.н. Федотчева Т.А., профессор кафедры ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ (без замечаний);

3. к.б.н. Соловьева Анастасия Олеговна, заведующий лабораторией фармакологических активных соединений Научно-исследовательский

институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН (без замечаний);

4. д.б.н. Корыстов Юрий Николаевич, заведующий лабораторией окислительного стресса ИТЭБ РАН. Замечание редакционного характера.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что д.б.н. Коваль О. А., является компетентным специалистом в области онкологии, иммунологии, клеточной и молекулярной биологии, связанной с исследованиями механизма противоопухолевой активности рекомбинантных белков, созданием опухолевых моделей и разработкой новых таргентных и иммунобиологических противоопухолевых препаратов; к.б.н. Яголович А.В. является компетентным специалистом в области генной инженерии, клеточной биологии, онкологии, фармакологии, нанотехнологии, связанной с разработкой и скринингом биологически активных соединений. Они имеют публикации по соответствующим темам в ведущих научных журналах.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ России известен своими достижениями в области изучения этиологии и патогенеза механизмов канцерогенеза, изучения строения и жизнедеятельности клеток, а также молекулярных и клеточных механизмов резистентности опухолевых клеток и путей ее фармакологического преодоления, что позволяет определить научную и практическую ценность диссертации А.С. Сенотова.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

впервые предложен механизм, лежащий в основе обратимого повышения резистентности клеток ОМЛ в трехмерных высокоплотных клеточных культурах к индукции клеточной гибели, опосредованной цитотоксическим лигандом TRAIL, основанный на активации внутриклеточных сигнальных путей, ассоциированных с воспалением;

впервые продемонстрировано, что возникновение резистентности клеток ОМЛ к TRAIL – индуцированному апоптозу не связано с ограничением проникновения белка TRAIL к клеткам глубоких слоев культур высокой плотности;

показано, что повышение TRAIL-резистентности клеток ОМЛ в трехмерных культурах высокой плотности основано на активации ФНО-регулируемого NF-κB опосредованного сигнального пути при участии антиапоптотических белков семейств IAP и Bcl-2;

установлено, что резистентность к TRAIL у клеток ОМЛ в высокоплотных культурах эффективно подавляется с помощью ВНЗ миметика Navitoclax.

предложен новый механизм повышения резистентности клеток ОМЛ в трехмерных культурах высокой плотности к действию цитотоксического лиганда TRAIL, основанный на активации ФНО-регулируемого NF-κB опосредованного сигнального пути, реализуемого при участии антиапоптотических белков семейств IAP и Bcl-2.

Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что представленная работа расширяет представления о молекулярных и клеточных механизмах, способствующих формированию устойчивости клеток ОМЛ к иммунобиологическим препаратам и компонентам иммунного надзора, а также представляет данные о возможности их преодоления. Полученные результаты могут служить теоретической основой для разработки новых стратегий в терапии ОМЛ.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается в том, что обнаруженный эффект активации провоспалительных сигнальных путей, их основных регуляторов и потенциальных молекулярных мишеней, позволяют разработать на их основе перспективные противоопухолевые препараты и стратегии терапии ОМЛ.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, т.е. с получением обладающих новизной результатов) использован

комплекс современных биоинформатических, биофизических, биохимических и методов клеточной биологии: проточная цитометрия, спектрофотометрия, вестерн-блоттинг, ПЦР с обратной транскрипцией.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- репрезентативность выборок данных и воспроизводимость результатов - результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных методов биоинформатики, биофизики, биохимии и клеточной биологии, соответствующих поставленным целям и задачам;

идея базируется на анализе собственных результатов и данных, имеющихся в современной научной литературе;

установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках;

использованы современные компьютерные методы анализа и статистической обработки экспериментальных данных;

Полученные данные прошли экспертизу в рецензируемых научных журналах и докладах на российских и международных научных конференциях.

Большинство авторских результатов получено впервые.

Личный вклад автора определяется его непосредственным участием на всех этапах выполнения работы, включая планирование, проведение научных экспериментов, обработку, интерпретацию полученных данных, подготовку научных публикаций и представление результатов на научных конференциях.

В ходе защиты диссертации Сенотова А.С. не было высказано критических замечаний.

Соискатель в полной мере ответил на заданные ему в ходе заседания вопросы, касающиеся ассоциированного с ФНО- α механизма активации фактора NF- κ B в трехмерных культурах высокой плотности, методики определения антиапоптотических белков семейства IAPs и флуориметрического

способа определения исследованных белков в клетках, о наличии в литературе данных о роли рецепторов DR4 и DR5 в апоптозе, а также о возможности применения препаратов на основе фактора некроза опухоли в онкологии.

На заседании 21 декабря 2023 года, протокол № 75, диссертационный совет **принял решение:** за решение научной задачи, имеющей значение для определения клеточно-молекулярных механизмов повышения устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу клеток ОМЛ в трехмерных культурах высокой плотности, моделирующих состояние лейкозных клеток в ограниченном пространстве костного мозга и возможности эффективного ингибирования повышенной TRAIL-устойчивости при онкологии присудить Сенотову А.С. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав учёного совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 19, против присуждения учёной степени – «0», недействительных бюллетеней – «0».

Зам. председателя

д.б.н., проф. Озолинь Ольга Николаевна

Ученый секретарь

д.б.н. Дегтярева Ольга Васильевна



21 декабря 2023 г.