

ОТЗЫВ

официального оппонента Якубовской Марианны Геннадиевны на диссертационную работу Первушина Николая Викторовича «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы исследования

Несмотря на последние научные достижения в области онкологии, заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) продолжает стремительно увеличиваться. Некоторые ЗНО на сегодняшний момент остаются трудноизлечимыми и продолжают уносить жизни миллионов людей ежегодно. Одним из активно развиваемых направлений современной терапии ЗНО является таргетная (целевая) терапия опухолей, при которой лекарственный препарат оказывает избирательное токсическое действие на опухолевые клетки в силу их специфических молекулярных особенностей. Перспективными мишенями для таргетной терапии опухолей являются белки Mcl-1 и MDM2, участвующие в регуляции запуска программируемой клеточной гибели – апоптоза. Белок Mcl-1 является антиапоптотическим представителем семейства Bcl-2 и его активация в опухолевых клетках приводит к ингибированию апоптоза. Повышенная экспрессия антиапоптотических белков семейства Bcl-2 способствует прогрессии многих ЗНО, способствуя развитию химиорезистентности к противоопухолевым цитостатикам. Белок MDM2 является негативным регулятором транскрипционного фактора p53, который выполняет функцию онкосупрессора и регулирует различные внутриклеточные процессы, в том числе, запуск апоптоза. Мутации в гене *TP53*, встречающиеся более чем в 50% опухолей, приводят к частичной или полной потере функциональной активности белка p53 и прогрессии опухоли. В клетках с функционально активным p53 ингибирование его взаимодействия MDM2, должно

способствовать его активации и повышению уровня транскрипции генов проапоптотических белков, запускающих апоптоз.

Одной из наиболее сложных проблем современной химиотерапии опухолей, в том числе и при проведении таргетной терапии, является развитие химиорезистентности. При применении антагонистов Mcl-1 и MDM2, так же как и при применении других противоопухолевых агентов, может возникать резистентность к их действию, что будет приводить к снижению эффективности противоопухолевой терапии. Поэтому исследование возможных молекулярных механизмов резистентности к действию таргетных препаратов, подавляющих активность Mcl-1 и MDM2, и поиск стратегий по ее преодолению является актуальной задачей современной молекулярной онкологии и биохимии.

Достоверность полученных результатов, научная новизна и практическая значимость исследования

Работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием современных методов биохимии, молекулярной и клеточной биологии, а также классических методов статистического анализа. Все результаты получены на сертифицированном оборудовании. Диссертантом проведено достаточное количество экспериментов, использованы альтернативные подходы для анализа наблюдаемых закономерностей в действии ингибиторов изучаемых антиапоптотических белков, полученные результаты проанализированы адекватными методами математической статистики. Достоверность полученных результатов также подтверждается тем, что они хорошо согласуются с рядом опубликованных данных, касающихся темы представленного исследования. Полученные данные были широко обнародованы, они представлены в 8 публикациях автора и были доложены и обсуждены на международных и российских научных конференциях.

Новизна и практическая значимость представленных научных положений и выводов не вызывают сомнений. Были получены новые клеточные модели развития химиорезистентности к действию таргетных препаратов, направленных на

подавление активности антиапоптотических белков Mcl-1 и MDM2. Предложены рациональные способы комбинирования химиотерапевтических препаратов при развитии устойчивости опухолевых клеток к ингибированию Mcl-1. Продemonстрирован вклад белков семейства Bcl-2 в ответе опухолевых клеток на действие антагонистов Mcl-1, а также в развитие приобретенной устойчивости к действию новых таргетных препаратов. Кроме того, была выявлена потенциальная прогностическая значимость этих белков для пациентов с аденокарциномой легкого.

В диссертации Первушина Н.В. впервые продемонстрирован эффект синергизма при совместном использовании антагонистов Mcl-1 и MDM2 на модели нейробластомы. В экспериментах *in vitro* и с помощью молекулярного моделирования было выявлено, что развитие устойчивости клеток нейробластомы к действию антагониста MDM2 RG7388 связано с появлением мутаций в гене опухолевого супрессора p53. Автор провел анализ встречаемости выявленной функционально значимой мутации в опухолях различного происхождения. Продemonстрированы последствия данного типа устойчивости, которые не удалось полностью преодолеть в экспериментах *in vitro* и *in vivo* ни при использовании антагонистов Mcl-1, ни классических генотоксичных противоопухолевых препаратов Цисплатин и Доксорубин, которые используются при лечении нейробластомы. Также была произведена оценка биологической активности новых антагонистов MDM2, которые являются модификациями препарата Нутлин-3а. Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание молекулярных механизмов действия новых таргетных препаратов для лечения ЗНО.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список литературы, содержащий 270 источников. Работа иллюстрирована 46 рисунками и 1 таблицей.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, определены цель и задачи, а также аргументированы научная новизна, научная и практическая значимости работы.

Обзор литературы изложен очень подробно, детально рассмотрены современные подходы таргетной терапии, направленной на ингибирование белков Mcl-1 и MDM2, приведены наиболее важные современные данные по молекулярным механизмам регуляции программируемой клеточной гибели.

Во второй главе дано подробное описание материалов и методы, выбранных для решения поставленных задач в ходе представленного исследования. Несомненным достоинством работы является разнообразие использованных методических подходов и их адекватное сочетание.

В третьей главе приведено детальное описание полученных результатов, которые снабжены богатым иллюстративным материалом.

В главе «Обсуждение результатов» проведено сопоставление полученных автором данных и их анализ в сравнении с отдельными опубликованными данными других научных исследований.

В разделе «Заключение» автор приводит резюме проведенного исследования и формулирует выводы. Выводы исследования полностью соответствуют полученным автором данным. Оформление диссертации соответствует установленным требованиям. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Вопросы и замечания

В качестве замечаний к представленной диссертации могу отметить следующее: 1. Преодоление химиорезистентности подразумевает восстановление чувствительности к действию агента путем использования какого-либо дополнительного средства, а не повышение эффективности терапии за счет использования комбинации препаратов.

2. Не следует делать заключение о прогностической значимости оценки уровня экспрессии какого-либо белка на малой выборке пациентов, для этого

исследования проводят с использованием образцов большого количества пациентов. По результатам проведенного исследования может быть сделан вывод о потенциальной прогностической значимости выявленной закономерности, что конечно же, также имеет научную и практическую значимость.

3. Кроме того, в тексте представленной диссертации есть некоторое количество стилистически некорректных предложений.

4. Отдельно следует подчеркнуть факт не всегда адекватного использования профессиональной терминологии, при подготовке текста научной работы следует быть более аккуратным.

5. Отдельные иллюстрации, приведенные в тексте работы и автореферате, очень перегружены, на них много очень мелких подписей, что осложняет восприятие представленного материала.

Все приведенные замечания не снижают научно-практической значимости проведенного исследования и не влияют на корректность сделанных автором выводов исследования.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Н.В. Первушина «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством кандидата биологических наук Копеиной Гелины Сергеевны, и содержит новое решение актуальной задачи биохимии по исследованию причин возникновения резистентности опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2. Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, теоретической и научно-практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Первушина Николая Викторовича полностью отвечает требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п. 9 положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства

Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., №426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 101 от 26.01.2023 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (14.00.14. Онкология),

заведующий отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»

Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России)

Якубовская М.Г.



Подпись доктора медицинских наук Якубовской М.Г. «заверяю»

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,

кандидат медицинских наук

Кубасова И.Ю.



Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

Контакты: +7(499)3241470

Электронная почта: mgyakubovskaya@mail.ru

«24» апреля 2024 года