

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Первушина Николая Викторовича
на тему: «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к
антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления»
по специальностям 1.5.22 Клеточная биология, 1.5.4 Биохимия

Актуальность темы исследования. По данным Всемирной организации здравоохранения, онкологические заболевания занимают второе место среди основных причин смертности в мире и ежегодно уносит жизни миллионов людей. В ходе процесса опухолевого перерождения злокачественные клоны приобретают ряд отличительных черт по сравнению с нормальными клетками. Одной из этих особенностей является устойчивость к различным типам программируемой клеточной гибели, включая апоптоз. Нарушения механизмов запуска апоптотической гибели лежат в основе прогрессии многих типов рака, поэтому ее активация представляет собой перспективную стратегию противоопухолевой терапии. В регуляции апоптоза, которая осуществляется различными генами и их продуктами, важную роль играют члены белкового семейства Bcl-2, которые, в свою очередь, по функциональным свойствам подразделяются на антиапоптотические (препятствующие гибели) и проапоптотические (способствующие гибели) белки. Повышение уровней белков, препятствующих апоптотической гибели клеток, является частой причиной развития приобретенной устойчивости опухолевых клеток к запуску апоптоза. К группе антиапоптотических белков, в том числе, относится Mcl-1, антагонисты которого сейчас исследуются в клинических испытаниях.

Транскрипционный фактор p53, поддерживающий стабильность генома, является важнейшим онкосупрессорным белком. Активация p53 за счет блокирования его негативного регулятора MDM2 способствует усилению транскрипции и соответствующему увеличению уровней p53-зависимых проапоптотических белков (Bax, Puma, Noxa), что, в свою очередь, ведет к

нейтрализации их антиапоптотических партнеров и запуску апоптоза в опухолевых клетках. В настоящее время ингибиторы MDM2 также активно изучаются на различных этапах клинических исследований.

Серьезной проблемой при использовании любых противоопухолевых препаратов, влияющей на исход лечения, является развитие приобретенной лекарственной устойчивости. Не стали исключением и антагонисты Mcl-1 и MDM2. На сегодняшний день механизмы приобретенной устойчивости к данным препаратам и подходы по ее преодолению остаются малоизученными.

Объем и содержание работы. Диссертация изложена на 191 страницах машинописного текста и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список литературы, содержащий 279 источников. Работа иллюстрирована 49 рисунками и 1 таблицей.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Основные положения, выносимые на защиту, являются хорошо обоснованными, и подкрепляются 11 публикациями диссертанта в международных и отечественных рецензируемых научных изданиях и 2 патентами. Кроме этого, обоснованность научных положений и выводов подтверждается качественным анализом 279 литературных источников. Использование современных методов клеточной и молекулярной биологии, биохимии, получение *in vitro*, *in silico*, *in vivo* и *ex vivo* данных, осуществление экспериментов в нескольких повторах, а также применение методов статистической обработки результатов бесспорно свидетельствуют о высокой степени обоснованности сформулированных диссертантом научных положений и выводов.

Новизна научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Применение антагонистов Mcl-1 и MDM2 является новым направлением в целевой терапии онкологических заболеваний. Исследуемые препараты были разработаны несколько лет назад и в настоящее время активно исследуются на различных стадиях клинических испытаний. В ходе работы была обнаружена ключевая роль белков Bak, Bcl-2 и Bcl-xL в ответе опухолевых клеток

на действие ингибиторов Mcl-1. Были получены новые клеточные модели, обладающие повышенной устойчивостью к действию антагониста Mcl-1 S63845, в двух из которых наблюдается повышение уровней других антиапоптотических белков – Bcl-2 или Bcl-xL. Показано, что одновременное подавление белков Mcl-1 и Bcl-2 или Mcl-1 и Bcl-xL вело к преодолению устойчивости опухолевых клеток к действию S63845. Была наглядно продемонстрирована прогностическая значимость профиля экспрессии белков семейства Bcl-2 для выживаемости пациентов с аденокарциномой легкого.

Впервые был установлен эффект усиления гибели при совместном использовании антагонистов Mcl-1 и MDM2 в опухолевой модели нейробластомы. Также была выведена новая клеточная модель нейробластомы SH-SY5Y, характеризующаяся повышенной устойчивостью к действию антагониста MDM2 RG7388. При помощи различных *in vitro* и *in silico* методов было выявлено, что причина устойчивости клеток нейробластомы к ингибированию MDM2 заключается в появлении мутаций в гене *TP53*, одна из которых привела к изменению аминокислотной структуры белка p53 и негативно повлияла на его транскрипционную активность. Было показано, что ни препарат целевого действия (антагонист Mcl-1) S63845, ни химиотерапевтические агенты Цисплатин и Доксорубин не вели к эффективному (полному) преодолению данного типа устойчивости в *in vitro* экспериментах, а полученные результаты для Доксорубина были подтверждены в мышинной ксенографтной модели *in vivo*. Кроме того, было продемонстрировано наличие биологической активности у новых антагонистов MDM2, являющихся производными препарата Нутлин-3а и обладающих по сравнению с ним улучшенными физико-химическими свойствами.

Следовательно, полученные в рецензируемой диссертационной работе результаты позволят внести существенный вклад в усовершенствование современных подходов противоопухолевой терапии, способствовать потенциальному одобрению для клинического применения исследуемых антагонистов Mcl-1 и MDM2 и несомненно обладают научной новизной.

Вопросы и замечания. Высоко оценивая работу Первушина Н.В. в целом, хочу обратить внимание на ряд недостатков:

- 1) раздел «Научная новизная работы» перегружен излишними деталями, что, вероятно связано со значительным количеством задач исследования.
- 2) в разделе «Научная новизная работы» упомянуто, что «Исучаемые в рамках данного проекта препараты были разработаны несколько лет назад и сейчас активно исследуются на различных стадиях клинических испытаний». Следует уточнить, как выполненные в рамках диссертационной работы исследования соотносятся с проводимыми клиническими испытаниями?
- 3) глава 2 «Материалы и методы» содержит информацию о различных материалах, реактивах, растворах и т.п. В этом перечне трудно догадаться, что основной «материал» (исследуемые соединения) спрятан в разделе 2.1.5. «Обработка клеток», что несколько странно и неудобно для восприятия.
- 4) Разделы, описывающие работу с ксенографтной мышинной моделью, описаны не вполне корректно: а) не указано, как подсчитывали плотность клеточной суспензии, трансплантируемой животным? б) объем опухолей оценивали только в двух измерениях?
- 5) Некоторые технические замечания: а) автор иногда путает понятия «доза» и «концентрация»; б) трудно читаемые мелкие надписи в рисунках; в) в списке сокращений приведены не все аббревиатуры, используемые в данной работе.

Заключение. Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Первушина Николая Викторовича на тему «Механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к антагонистам Mcl-1 и MDM2 и способы ее преодоления» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.22 Клеточная биология, 1.5.4 Биохимия (по биологическим наукам). Диссертация Первушина Н.В. отвечает критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по

защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Первушин Николай Викторович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22 Клеточная биология, 1.5.4 Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

заведующий лабораторией радиационной фармакологии

Медицинского радиологического научного центра имени А. Ф. Цыба – филиала

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный

медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства

здравоохранения Российской Федерации (МРНЦ имени А. Ф. Цыба – филиал

ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России)

Филимонова Марина Владимировна



27.01.2025 г.

Контактные данные:

тел.: +7-903-8144013, e-mail: vladimirovna.fil@gmail.com

Специальности, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология,

03.01.01 – радиобиология

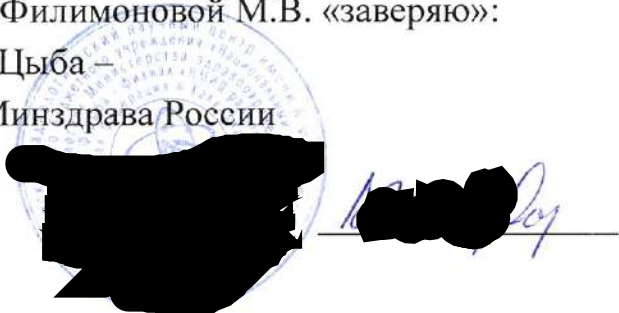
Подпись доктора биологических наук Филимоновой М.В. «заверяю»:

Ученый секретарь МРНЦ имени А.Ф. Цыба –

филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор

Петров В.А.



Адрес места работы:

249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4

Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный

медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства

здравоохранения Российской Федерации (МРНЦ имени А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ

«НМИЦ радиологии» Минздрава России)

тел.: +7-903-8144013, e-mail: vladimirovna.fil@gmail.com