



«Утверждаю»

проректор по науке

Российско-Армянского Университета

д-р филос. наук П.С. Аветисян

«06» ноября 2025г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Котлова Никиты Юрьевича

«Молекулярная классификация и изучение подтипов микроокружения диффузной крупноклеточной В- клеточной лимфомы на основе транскриптомных данных»

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.00.03 – «Молекулярная и клеточная биология»

Актуальность темы исследования

Диффузная крупноклеточная В- клеточная лимфома (DLBCL) — самая распространённая форма агрессивных неходжкинских лимфом, характеризующаяся значительной клинико-биологической гетерогенностью. Несмотря на успехи стандартной иммунохимиотерапии (например, R- CHOP), существенная доля пациентов демонстрирует рефрактерное течение болезни или ранний рецидив. На этом фоне возрастает потребность в молекулярной стратификации опухолей и учёте состояний опухолевого микроокружения (TME) как важнейшего фактора прогноза и ответа на лечение. Диссертация Н. Ю. Котлова посвящена построению и валидации интегративной классификации TME DLBCL на больших наборах транскриптомных данных, что делает работу своевременной и научно значимой.

Степень разработанности проблемы, цель и задачи диссертации

В представленной работе обобщены и унифицированы крупные массивы экспрессионных профилей лимфоидных тканей, включающие 4655 образцов DLBCL из открытых источников (базы ArrayExpress, GEO, SRA и ENA) и клинических когорт. Для валидации сигнатур, описывающих микроокружение DLBCL в лимфоузлах, была собрана коллекция из 5,069 образцов экспрессии генов сортированных клеточных популяций, включая нормальные и опухолевые клетки (DLBCL, FL и BL), полученных из общедоступных репозиториях NCBI GEO, SRA, ENA и ArrayExpress. Цель исследования — разработка молекулярной классификации подтипов опухолевого микроокружения в диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, исследование их биологических свойств, клинической значимости и взаимодействия с генетическим контекстом опухоли. К задачам относятся:

1. Разработать и верифицировать классификацию подтипов опухолевого микроокружения (LME) на основе транскриптомных данных.
2. Исследовать ассоциации подтипов LME с клинико-патологическими и молекулярными характеристиками DLBCL, включая известные экспрессионные классификации.
3. Оценить прогностическую значимость LME-подтипов на независимых когортах, включая данные клинических испытаний с различными режимами терапии.

4. Проверить функциональную роль LME-подтипов в доклинических моделях.
5. Провести характеристику подтипов микроокружения и генетических подтипов DLBCL и их связь с структурными особенностями В-клеточного рецептора лимфомы (изотип, сегмент IGHV).
6. Интегрировать данные о микроокружении и мутационном профиле для выявления новых биологически значимых и клинически релевантных подтипов DLBCL.

Научная новизна и основные результаты

- 1) Предложена интегративная транскриптомная классификация подтипов микроокружения DLBCL, включающая несколько устойчивых и биологически интерпретируемых состояний LME. Подтипы хорошо воспроизводятся при повторном анализе данных и сохраняются в независимых когортах при валидации, что свидетельствует об их устойчивости и методологической корректности.
- 2) Для каждого подтипа описаны характерные клеточные и сигнальные контуры — соотношения иммунных и стромальных компонентов, интенсивность воспалительных и интерферон- опосредованных ответов, состояние антиген- представления и ремоделирование межклеточного матрикса. Это позволило перейти от абстрактных «подписей экспрессии» к осмысленным режимам взаимодействия злокачественных В-клеток с окружающей тканью.
- 3) Показана прогностическая значимость выделенных подтипов LME. Ряд состояний ассоциирован с благоприятной выживаемостью, тогда как другие — с неблагоприятной, причём прогностическая ценность сохраняется после поправки на клинические индексы риска (IPI) и клеточно- происхождённую классификацию (COO). Это подчёркивает независимый вклад LME в вариабельность течения DLBCL.
- 4) Получены свидетельства участия эпигенетических механизмов (в частности, нарушений метилирования ДНК) в формировании иммунного уклонения и «приглушения» антиген-представления у опухолевых клеток и элементов LME. Отмечены признаки потенциальной чувствительности отдельных неблагоприятных состояний микроокружения к эпигенетическими изменениями.
- 5) Результаты сопровождаются многосторонней проверкой: биоинформатической (кросс-платформенная валидация, повторные обучающие/тестовые разбиения, регрессионных моделей и анализом выживаемости с корректными статистическими тестами) и отдельными функциональными подтверждениями, описанными в тексте диссертации.

Теоретическая и практическая значимость

Предложенная классификация подтипов микроокружения углубляет теоретическое понимание роли LME в патогенезе DLBCL и объясняет часть межпациентской вариабельности исходов. С практической точки зрения, выделенные подтипы могут быть использованы как основа для стратификации пациентов в клинических исследованиях и для формирования гипотез о комбинированных терапевтических подходах (включая сочетания иммуно- и эпигенетических вмешательств). Приведённые автором алгоритмические решения (деконволюция, сигнатуры, правила отнесения к подтипам) потенциально пригодны для внедрения в рутинную молекулярно- диагностическую практику при наличии стандартизованных протоколов предобработки и порогов принятия решений.

Обоснованность и достоверность выводов

Достоверность результатов обеспечивается:

- (i) формированием репрезентативной мета-когорты и прозрачными критериями включения/исключения данных;
- (ii) унифицированной предобработкой и нормализацией экспрессии;
- (iii) использованием современных методов деконволюции и кластеризации с оценкой значимости результатов;
- (iv) проверкой гипотез на независимых наборах данных;
- (v) применением корректных статистических моделей выживаемости, в том числе с учетом конкурирующих факторов. Дополнительные функциональные наблюдения усиливают каузальную интерпретацию некоторых связей между эпигенетическими изменениями и иммунобиологическими особенностями неблагоприятных подтипов LME.

Оценка содержания диссертационной работы и ее завершенности

Материалы и результаты работы изложены последовательно и аргументированно. Диссертация построена по традиционному плану и включает следующие разделы: введение, список сокращений, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы. Работа выполнена на русском языке, изложена на 119 страницах, содержит 59 рисунков и 2 таблицы; список литературы включает 141 библиографическую ссылку.

Литературный обзор охватывает молекулярное разнообразие диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), эволюцию её молекулярных классификаций (включая COO), особенности опухолевого микроокружения, ключевые генетические и эпигенетические механизмы, а также современные омикс-ресурсы и транскриптомные базы данных, применяемые для изучения DLBCL.

В главе «Материалы и методы» описаны источники и критерии отбора данных, процедуры предобработки и нормализации, подходы к деконволюции клеточного состава и построению сигнатур, методы неконтролируемого кластерного анализа, а также регрессионные и выживаемостные модели с корректными статистическими контролями.

В главе «Результаты и обсуждение» представлен вычислительный конвейер массового анализа транскриптомных данных, выделены и биологически интерпретированы подтипы микроокружения DLBCL, показаны их связи с клиническими исходами и молекулярными признаками опухоли; детально рассмотрены свойства выявленных модулей генов и их функции в сопоставлении с современными представлениями о биологии заболевания.

В «Заключении» обобщены полученные результаты, отмечены преимущества и ограничения примененных методов и обозначены возможности их дальнейшего использования для расширенного анализа больших данных в молекулярной онкологии.

Текст диссертации полностью соответствует заявленным цели и задачам исследования; цели и задачи выполнены в полном объеме, а выводы представляются обоснованными и аргументированными.

Замечания и рекомендации

1) С целью дальнейшей трансляции результатов в клиническую практику целесообразно сформулировать минимальный набор процедур и метрик для стандартизованного отнесения образцов к подтипам LME (включая описание допустимых платформ, требования к качеству данных, пороговые значения и формат отчета для врача-исследователя).

2) Для повышения воспроизводимости и независимой валидации рекомендуется предоставить устойчивые версии программного кода и протоколов обработки данных (с фиксацией версий библиотек и параметров моделей), а также иллюстративные примеры

3) В рамках обсуждения терапевтических перспектив полезно подробнее сопоставить неблагоприятные подтипы LME с потенциальными схемами комбинированной терапии и критериями отбора пациентов; это усилит прикладную значимость классификации при планировании клинических исследований.

По материалам диссертационной работы опубликовано шесть работ. Отдельные фрагменты исследования представлены в публикациях в рецензируемых журналах с высоким индексом цитирования, включая Cancer Cell, Cancer Discovery, Journal of Experimental Medicine и Clinical Cancer Research. Опубликованные по теме диссертации работы в достаточной степени отражают ее основные положения. Также основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на международных научных конференциях и опубликованы в сборниках трудов этих конференций.

Диссертационная работа Н. Ю. Котлова представляет собой завершенное научно-квалификационное исследование, содержащее комплекс новых и обоснованных научных результатов, имеющих важное значение для молекулярной онкогематологии и трансляционной онкологии. Поставленные цели достигнуты, выводы логичны и подтверждены разносторонними анализами. По своему содержанию, уровню научной новизны, теоретической и практической значимости, а также по степени обоснованности положений, выносимых на защиту, диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 «Молекулярная и клеточная биология», а ее автор, Котлов Никита Юрьевич, заслуживает присуждения указанной ученой степени.

Ст. преподаватель кафедры биоинженерии,
биоинформатики и молекулярной биологии
ИБМиФ РАН

Заведующий кафедрой системного
программирования
ИМФиВТ РАУ

22/11/2019

Подписи С. Давитаяна и С. Саргсяна заверяю
уч. секретарь Российско-
Армянского Университета



канд.филол. наук Р. Касабабова