

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Котлова Никиты Юрьевича
“Молекулярная классификация и изучение подтипов микроокружения диффузной
крупноклеточной лимфомы на основе транскриптомных данных”, представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 –
“Молекулярная и клеточная биология”

Представленная диссертационная работа посвящена всестороннему анализу опухолевого микроокружения при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме (DLBCL) с использованием масштабных биоинформатических подходов и интеграцией транскриптомных, мутационных, эпигенетических и иммунологических данных. Автором предложена оригинальная классификация подтипов опухолевого микроокружения (LME) на основе экспрессионных сигнатур, отражающих клеточный состав, функциональную активность и сигнальные пути. Разработка данной системы, её валидация на независимых когортах и сопоставление с клиническими характеристиками представляют собой значимый вклад в молекулярную онкогематологию.

Автором были сформулированы научная цель и задачи исследования, разработаны ключевые гипотезы, а также осуществлены планирование и координация исследовательской работы. Все эксперименты на доклинических моделях были реализованы в партнерских лабораториях. Целью работы явилось „Разработка молекулярной классификации подтипов опухолевого микроокружения в диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, исследование их биологических свойств, клинической значимости и взаимодействия с генетическим контекстом опухоли“. Для достижения указанной цели, определены 6 задач, формулировка и решение которых иллюстрирует новизну и актуальность предпринятого исследования.

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.

Структура и содержание литературного обзора свидетельствуют об умении автора работать с литературой и делать необходимые обобщения.

Работа отличается высоким уровнем аналитической глубины, продуманной структурой и логикой изложения. Автор продемонстрировал владение современными методами анализа больших данных, включая ssGSEA, деконволюцию, оценку мутационного и эпигенетического профиля, а также их клиническую интерпретацию.

Впервые представлена системная характеристика опухолевого микроокружения DLBCL, включающая четыре подтипа LME (GC, MS, IN, DE), различающихся по клеточному составу, сигнальной и эпигенетической активности, а также клиническим исходам. Автор убедительно показал, что тип микроокружения обладает независимой прогностической и потенциально предиктивной значимостью, сопоставимой с классическими моделями COO и DHITsig. Отмечено снижение клеточного разнообразия микросреды в динамике заболевания.

Интеграция мутационных, BCR- и эпигенетических данных выявила обогащение IgM/IGHV4-34 и мутаций CD79B в ABC-кластерах (MCD/BN2/A53), ассоциированных с конститутивной активацией BCR-сигналинга. Дефицит FAS (часто в сочетании с потерей TNFRSF14 или PDL1) обнаружен преимущественно в подтипах GCB и EZB и сопровождается неблагоприятным прогнозом, повышенной представленностью Tfh-клеток и редким типом LME-DE. Для подтипа LME-DE характерны высокий уровень CIMP, гиперметилирование и снижение активности SMAD1 и пути TGFβ.

Деметилирующая терапия азацитидином в ксенографтных моделях сопровождалась реметилированием и реактивацией супрессорных генов, повышением экспрессии МНС и усилением инфильтрации Т-клеток. В строме выявлено активное участие CAF и TAM в ремоделировании внеклеточного матрикса: CAF синтезируют компоненты ECM (декорин, бигликан), тогда как TAM способствуют его перестройке. Индекс TAM/CAF служит сильным неблагоприятным прогностическим маркером, тогда как экзогенное введение декорина или бигликана подавляет рост опухоли в экспериментальных моделях.

Замечания. Несмотря на высокое качество и значимость исследования, работа не лишена отдельных недостатков, главным образом касающихся иммунологической и медицинской интерпретации результатов:

1. Следует уточнить, по каким критериям или молекулярным маркерам проводилась аннотация макрофагов типа M1, а также других клеточных популяций. Остаётся неясным, почему макрофаги типа M2 не были включены в классификацию, учитывая, что именно M2-подобные макрофаги преобладают среди тканевых резидентных макрофагов и особенно характерны для опухолевого

микроокружения. При этом автор отмечает, что экспрессия генов, связанных с ремоделированием внеклеточного матрикса, была выше в макрофагах, что характерно именно для M2-макрофагов.

2. Рисунок 4. Следует пояснить, какие именно клетки обозначены как Th-клетки в первом ряду рисунка. Далее указаны подтипы CD4⁺, Treg и другие, однако неясно, чем тогда отличаются Th и CD4⁺ клетки. Это требует уточнения в тексте к рисунку. Учитывалось ли наличие или влияние терапии при интерпретации результатов?
3. В работе отмечено, что подтип LME-MS характеризуется обогащением мутаций в генах, связанных с нарушением антиген-презентации и миграции В-клеток. Данный результат представляется интересным и требует более развёрнутого обсуждения с точки зрения его биологического смысла, поскольку высокая доля фибробластов и лимфатического эндотелия, характерная для LME-MS, неочевидно сочетается с такими типами генетических изменений.
4. LME-IN подтип обозначен как „воспалённый“, однако корректнее использовать термин „воспалительный“, либо, учитывая высокую представленность CD8⁺ и NK-клеток, охарактеризовать его как „цитотоксический“. В пользу последнего варианта говорит тот факт, что данный тип характеризуется наименьшим опухолевым содержанием, а также самой низкой мутационной нагрузкой.
5. Несмотря на убедительный биоинформатический анализ, связь между выявленными LME-подтипами и конкретными иммунными процессами остаётся недостаточно раскрытой. Отсутствует обсуждение функциональных последствий различий между подтипами (например, как LME-IN или LME-MS влияют на антиопухолевый иммунный ответ).
6. Практически отсутствует анализ цитокиновых профилей, что ограничивает понимание иммунного микроклимата.
7. Для LME-подтипов целесообразно добавить краткую схему их возможного внедрения в рутинную клиническую практику, указать требования к качеству РНК-материала, минимальную панель генов, пороговые значения для классификации, особенно с учётом того, что автор является разработчиком данной типологии.
8. Представляется целесообразным дополнить обсуждение возможностей терапевтической стратификации пациентов. Следовало бы указать, какие LME-подтипы потенциально могут быть чувствительны к иммунотерапии, блокаде контрольных точек (checkpoint inhibitors), модуляции макрофагов или другим видам терапии. Такое обсуждение позволило бы подчеркнуть прикладную значимость исследования и его связь с современной клинической онкогематологией.
9. Желательно привести все аббревиатуры к единому (английскому) языку, чтобы сохранить единообразие стиля по всему тексту.

Данные замечания носят конструктивный характер и не снижают научной ценности работы, а скорее указывают направления для её дальнейшего развития.

Считаю, что диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к научно-квалификационным работам на соискание учёной степени, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 - “Молекулярная и клеточная биология”.

ИМБ НАН Армении, ведущий научный сотрудник, к.б.н. Гаянэ Манукян

Ученый секретарь Института молекулярной
биологии НАН РА, к.б.н.

З. А. Хачатрян

