

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, Топтыгиной Анны Павловны на диссертационную работу Филиной Александры Борисовны на тему: «Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Актуальность избранной темы

На фоне повышающейся продолжительности жизни во всем мире на первый план начинают выходить вопросы «возрастных» заболеваний. Одной из таких проблем во всем мире являются онкологические заболевания. Хотя эти заболевания могут встречаться и в детском возрасте, тем не менее, во всем цивилизованном мире одной из задач является здоровое долголетие. Огромные успехи достигнуты в деле лечения рака, получены Нобелевские премии, но рак не отступает, а это значит, что наши знания о причинах и механизмах его развития недостаточны. Поэтому внимание многих ученых и у нас в стране и во всем мире направлено на детальное изучение этих проблем. Изучение хемотаксиса при онкологических заболеваниях актуально по двум, по крайней мере, причинам. Во-первых, опухолевые клетки не чужеродны – это клетки данного организма и используют те же механизмы миграции, что и здоровые клетки, то есть мы можем получить интересные сведения о причинах быстрого метастазирования одних опухолей, и практически отсутствия метастазирования в других случаях. С другой стороны, клетки иммунной системы также должны мигрировать в зону опухоли, инфильтрировать ее и активно ее атаковать, однако на практике, эти процессы нарушаются и активно тормозятся опухолевыми клетками, не говоря уже, что многие хемокины

обладают проангиогенными свойствами и помогают опухоли выжить. Такие знания могли бы дать выход на поиск новых видов лечения рака.

В связи с выше изложенным, диссертационная работа Филиной Александры Борисовны, посвященная изучению влияния CXCL12 и лиганда TLR9 на хемотаксис и экспрессионный профиль опухолевых клеток является актуальной и современной.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы Филиной А.Б. заключается в первую очередь в подходе к изучению миграции опухолевых клеток. Автором впервые было изучено влияние таких факторов врожденного иммунитета как TLRs, EGFR, хемокинов и их рецепторов на миграцию клеток.

Автором было показано, что после воздействия CXCL12 на клетки лейкоза значительно снижается экспрессия гена *EGFR*, было исследовано влияние лиганда TLR9 на миграцию опухолевых клеточных линий различных лейкозов, что указывает на альтернативные пути активации движения опухолевых клеток.

Теоретическая и практическая значимость работы

Автором разработаны системы на основе ПЦР в режиме реального времени для количественного определения экспрессии генов хемокинов и их рецепторов, которые могут быть использованы для исследования экспрессии представленных генов в научных целях. Отработана схема исследования хемотаксиса опухолевых клеточных линий K562, Reh, мононуклеарных клеток, выделенных от здоровых доноров и пациентов с острым миелоидным лейкозом.

Представленная модель может быть использована для оценки хемотаксиса различных опухолевых клеток, полученные данные могут быть ис-

пользованы для прогнозирования течения опухолевого процесса, а также оценки успешности химиотерапии.

Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов

Диссертационная работа Филиной А.Б. выполнена в соответствии с требованиями ВАК. В работе представлен ряд экспериментов как на культурах клеток, так и на моноклеарных клетках периферической крови здоровых добровольцев и пациентов. Для статистической обработки применялся ряд подходов и современное программное обеспечение. Автором проведен сравнительный анализ результатов собственного исследования с результатами зарубежных научных трудов. Научные положения, выносимые на защиту, подтверждены результатами экспериментов.

Дизайн исследования также полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертационная работа Филиной А.Б. выполнена на высоком методическом уровне, что подтверждается анализом достаточного количества литературы по теме исследования, применением современных культуральных и молекулярно-генетических методов исследования, соответствующих поставленным задачам. Исследования проводили на сертифицированном оборудовании. Таким образом, поставленную в диссертационной работе цель следует считать достигнутой, а сделанные выводы - достаточно аргументированными.

Биоинформатический анализ и статистическая обработка с использованием ряда подходов к обработке данных А.Б. Филиной, в большей степени, выполнены лично, как и основные этапы диссертационного исследования, а результаты представлены на 5 международных конференциях и отражены в 7 научных статьях, 6 из которых рекомендованы ВАК РФ.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Филиной А.Б. построена по общепринятому плану. Во введении автор обосновывает актуальность исследования, излагает цель и задачи, описывает новизну и практическую значимость работы. В обзоре литературы описана роль различных TLR в развитии опухолевого процесса, рассмотрены проонкогенные и антионкогенные воздействия различных TLR. Также подробно описаны различные хемокины и их рецепторы, вовлеченные в опухолевой процесс, ангиогенная и ангиостатическая роль хемокинов.

В главе материалы и методы представлена методическая часть работы: описан дизайн, исследованные группы пациентов, критерии включения/исключения. Описаны использованные методы: культуральные, молекулярно-генетические и методы статистического анализа.

В главе «Результаты и обсуждение» подробно описаны этапы отработки схемы исследования хемотаксиса клеток опухолевых линий K562 и Reh и экспрессии гена CXCL12. Автором была отработана методика исследования хемотаксиса клеток опухолевых линий по направлению к лиганду TLR9 и CXCL12 с использованием камеры Бойдена. Также показано, что лиганд TLR9 снижает динамику миграции клеток линий K562 и Reh, в то время как влияние CXCL12 имело прямо противоположный эффект. Показано снижение экспрессии гена CXCL12 в клетках K562 под действием CXCL12. В другом разделе автором описана работа с мононуклеарными клетками, выделенными как от здоровых доноров, так и от пациентов с острым миелоидным лейкозом до и после химиотерапии. Автором было показано, что лиганд TLR9 не влияет на миграцию клеток, выделенных от пациентов, также показано, что динамика миграции мононуклеарных клеток здоровых доноров относительно CXCL12 значительно выше контроля, в то время как в группе пациентов с острым миелоидным

лейкозом динамика миграции к CXCL12 отрицательная. Показано снижение экспрессии EGFR и CXCL12 и повышение экспрессии CCR4 после воздействия CXCL12 в клетках, выделенных от пациентов до химиотерапии, в то время как значимых изменений в экспрессии TLR9 не отмечено.

Заключение диссертационной работы содержит краткое резюме, охватывающее основные моменты проведенных исследований. Выводы вытекают из полученных диссертантом в ходе работы результатов. Список литературы включает 227 источников, из них 6 русскоязычных и 221 иностранных авторов. Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста, содержит 20 рисунков и 4 таблицы.

Замечания по диссертационной работе

Имеются отдельные замечания и вопросы к диссертационной работе:

1. Можете уточнить, сколько опытов было проведено на клеточных линиях?
2. Раздел статистической обработки полученных данных написан скудно, заявлены как параметрические, так и непараметрические методы. Можете подробно обосновать, какие методы статистической обработки использовались и почему. Какая статистическая обработка представлена на диаграммах и рисунках. Результаты представлены преимущественно в виде графиков.
3. Сколько было обследовано здоровых добровольцев и сколько было пациентов. До и после лечения – это одни и те же люди, или разные? В разных частях диссертации указано разное количество. С чем связано небольшое количество пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ)? Диагноз ОМЛ не является

редкостью, поэтому непонятно, почему нельзя было собрать больше пациентов.

4. Следует отметить, что в обзоре практически нет русскоязычных ссылок, в списке литературы их всего несколько и это только учебники. Складывается впечатление, что в отечественной литературе отсутствуют исследования хемокинов и TLR. Список литературы оформлен не везде корректно.
5. Обсуждение результатов небольшое в виде кратких заключений в конце каждого подраздела. Хотелось бы иметь реальное обобщение сформировавшегося ученого.
6. Можете обосновать выбор генов для анализа экспрессии. Так, исследован хемокин CXCL12 и не исследован его рецептор CXCR4, но зато есть данные по рецептору CCR4 к совсем другому хемокину, роль которого не исследовалась в данной работе. Обоснуйте изучение экспрессии рецептора эпидермального ростового фактора (EGFR). Можете сделать заключение, так в чем же роль исследованных параметров врожденного иммунитета в опухолеобразовании.

При этом следует отметить, что замечания не затрагивают основных положений и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Филиной Александры Борисовны «Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по исследованию хемотаксиса клеток лейкоза человека.

Диссертационная работа Филиной Александры Борисовны «Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, (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.), а ее автор, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, доктор медицинских наук

Топтыгина А.П.

125212, Москва, ул. Адм. Макарова д.10

тел: 8(495)452-18-01, e-mail toptyginaanna@rambler.ru

Подпись А.П. Топтыгиной заверяю

Ученый секретарь

ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского

Роспотребнадзора, к.м.н.
А.В.



Сафронова