ОТЗЫВ

официального оппонента академика РАН, доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология,аллергология, профессора, директора ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующего лабораторией молекулярной иммунологии Тотоляна Арега Артемовича 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 диссертационной работы

Последние десятилетия учеными активно ведутся исследования по изучению роли иммунитета в онкологических процессах и немалую роль в росте и метастазировании опухолевых клеток играют факторы врожденного иммунитета. На настоящий момент актуальным является не только разработка терапевтических методов лечения роста опухоли, но и также предотвращение метастазирования клеток, основную роль в котором играет хемотаксис. В отличие от миграции опухолевых клеток солидных опухолей, миграция клеток лейкоза имеет свои особенности. Механизм регулировки хемотаксиса клеток лейкоза направлен на снижение возврата клеток в ниши костного мозга.

Несмотря на большое количество исследований, направленных на изучение миграции опухолевых клеток, в частности лейкоза, данная проблема до сих не до конца исследована. Так же не учитывается влияния факторов врожденного иммунитета в совокупности, таких как TLRs и хемокинов.

Таким образом недостаточная изученность регуляторных механизмов метастазирования и развития лейкозов является весомым аргументом в пользу актуальности диссертационного исследования, проведенного Филиной А.Б.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Филиной А.Б. проанализирован достаточной объем зарубежной и отечественной литературы по теме диссертации, тщательно проведен отбор клинического материала, подобраны оптимальные методы и условия исследований *in vitro*. Методология проведения работы позволила решить задачи, поставленные в диссертации. Автором проведена статистическая обработка полученных результатов при наличии достаточного количества пациентов и поставленных экспериментов, проведенных с использованием современных методов исследования.

Вышесказанное позволяет отметить, что выполненное Филиной А.Б. диссертационное исследование является оригинальным, завершенным в рамках поставленной цели и задач научно-квалификационном трудом.

Достоверность исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием и анализом большого объема экспериментальных данных, применением современных, высокоинформативных методов исследования.

Диссертантом проведен комплексный и большой анализ полученных результатов по исследованию миграции опухолевых клеток, экспрессии факторов врожденного иммунитета в ответ на воздействие лигандом TLR9 и CXCL12, а также необходимый объем статистической обработки с использованием непараметрических методов расчета.

Положения, выносимые на защиту и выводы, полностью соответствуют полученным результатам, что свидетельствует о достижении поставленной цели и решении заявленных в работе задач.

О достоверности полученных в ходе работы результатов, выводов и положений, позволяет положительно судить адекватное применение автором

современных методов исследования миграции клеток, молекулярно-генетических и статистических методов.

Научная новизна исследований

В диссертационной работе Филиной А.Б. представлены данные по миграции опухолевых клеток, а также экспрессионному профилю изучаемых клеток, которые представляют научную новизну.

Впервые диссертантом было высказано предположение об альтернативных путях активации миграции клеток лейкоза путем влияния на TLRs, которое имело подтверждение в серии проведенных экспериментов. Впервые на клеточных опухолевых культурах Reh и K562 был показан ингибирующий эффект лиганда TLR9 на хемотаксис клеток, в то время как не было обнаружено влияния лиганда на хемотаксис мононуклеарных клеток, выделенных от пациентов с острым миелоидным лейкозом.

Впервые показана прямая корреляционная зависимость уменьшения хемотаксиса от экспрессии гена *CXCL12* в спонтанно мигрировавших клетках.

Также Филиной А.Б. впервые вынесено предположение об изменении уровня экспрессии гена *EGFR* после воздействия CXCL12, так как на настоящий момент высказано несколько предположений причины низкого антипролиферативного эффекта препаратов группы ингибиторов EGFR на клетки лейкозов, в частности острого миелоидного лейкоза. Диссертантом было показано, что влияние CXCL12 снижает уровень экспрессии *EGFR*.

Автор показал, что конститутивная экспрессия гена *CXCL12* в мононуклеарных клетках пациентов с острым миеломонобластным лейкозом в несколько раз выше превышает таковую в мононуклеарных клетках, выделенных от здоровых доноров.

Таким образом, анализ представленной диссертационной работы и сравнение с исследованиями других ученых по данной теме, дают право считать научный труд оригинальным и представляющим новые данные.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Несмотря на фундаментальность диссертационной работы Филиной А.Б., полученные результаты успешно могут быть использованы в первую очередь в учебном процессе. Также разработанные ПЦР-РВ системы могут быть использованы в выполнении научных исследований по экспрессии генов.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертационная работа Филиной А.Б. написана в традиционном стиле. Изложена на 108 страницах машинописного текста. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы методов и материалов исследования, главы результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка сокращения и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 4 таблицами и 20 рисунками.

Во введении аргументирована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость результатов.

Первая глава посвящена литературному обзору данных по теме диссертационного исследования. Обзор содержит подробный анализ состояния проблемы влияния факторов врожденного иммунитета на развитие онкологического процесса, в частности влияния таких факторов как TLRs и хемокинов. Предоставлен значительный объем проанализированной литературы, что указывает на актуальность диссертационной работы.

Во второй главе (материалы и методы) автором дана подробная характеристика клинических групп исследования, культур клеток, использованных методов, используемых на всех этапах проведенной работы.

В третьей главе (результаты и обсуждения), в соответствующих подглавах, изложены результаты, полученные в ходе исследования миграции клеток опухолевых линий, а также мононуклеарных клеток, выделенных от

пациентов с острым миелоидным лейкозом до и после химиотерапии с использованием камеры Бойдена, в ходе исследования экспрессии генов с использованием ПЦР-РВ. Результаты иллюстрированы графиками с отображением статистической обработки.

Заключение и выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам, их достоверность и обоснованность не вызывает сомнений. В автореферате, объём и форма которого соответствует требованиям ВАК РФ, полно представлены основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Однако в ходе рецензирования возникли следующие вопросы:

1. Насколько полученные автором результаты будут воспроизводимы если для оценки хемотаксиса использовать не камеру Бойдена, а другие методические подходы?
2. Как изменится хемотаксис опухолевых клеток если CXCR4 заблокировать соответствующими моноклональными антителами?
3. Для каких еще хемокинов целесообразно использовать аналогичный методический подход с использованием разработанной модели для исследования хемотаксиса?

Заключение

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 завершенной научно-квалификационной работой, содержащим новое решение актуальной задачи по исследованию хемотаксиса клеток лейкоза человека.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, методическому уровню и достоверности полученных

результатов диссертационная работа полностью соответствует критериям, которые должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, п.9 «Положения о порядке присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. № 842 (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016г. № 335, от 01.10.2018г. №1168 «О внесении изменений в Положение о присуждении степеней»), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:
Академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор, директор ФБГУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера, заведующий
лабораторией молекулярной иммунологии А.А. Тотолян

Подпись академика РАН, д.м.н., профессора Тотоляна А.А. заверяю
Ученый секретарь ФБГУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера, к.м.н. Г.Ф Трифонова

«27» сентября 2019 г.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д.14;
телефон: +7(812)2332092, +7(812)2330856; e-mail: pasteur@pasteurorg.ru, сайт: http://www.pasteurorg.ru