

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента, заведующего лабораторией роста и развития научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» Ельчанинова Андрея Владимировича на диссертационную работу Подлесной Полины Алексеевны на тему «Роль цитотоксической активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

### Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Подлесной Полины Алексеевны посвящена исследованию взаимодействия опухолевых клеток предстательной железы и цитотоксических макрофагов. А именно, участию последних в формировании устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов и изучению механизмов развития данного вида устойчивости, а также описанию фенотипа, функциональных характеристик и транскриптома устойчивых субклиний опухолевых клеток предстательной железы.

В настоящее время в большинстве развитых стран рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее распространенных форм онкологических заболеваний у мужчин. И, если для гормоночувствительного РПЖ существуют эффективные тактики лечения, то для гормонорезистентных форм данного заболевания терапевтические тактики весьма ограничены. Изучение особенностей взаимодействия клеток РПЖ и цитотоксических макрофагов, а также механизмов формирования устойчивости опухолевых клеток к данному воздействию вносит вклад в определение потенциально эффективных иммунотерапевтических подходов к лечению злокачественных опухолей данной локализации.

Ограниченность иммунотерапевтических тактик лечения РПЖ отчасти обусловлена недостаточными данными об особенностях опухолевого иммунного инфильтрата и механизмах взаимодействия опухолевых и иммунных клеток стромы РПЖ. В рамках диссертационной работы Подлесной П.А. проведен масштабный анализ фенотипа клеток воспалительного инфильтрата РПЖ, результаты которого расширяют наше понимание о прогрессии данного заболевания и представляют интерес в поиске новых диагностических и терапевтических стратегий.

Формирование устойчивости опухолей к цитотоксическому действию клеток иммунной системы – одна из наиболее актуальных проблем современной онкологии. Поиск механизмов формирования устойчивости позволит определить потенциальные способы их регулирования. В ходе диссертационной работы Подлесной П.А. разработана уникальная модель сокультивирования макрофагов и опухолевых клеток *in vitro*, позволяющая как изучать механизмы цитотоксической активности макрофагов, так и отбирать клоны опухолевых клеток, устойчивые к данному воздействию. Разработка валидных воспроизводимых моделей – актуальная задача фундаментальной науки для стандартизации данных, полученных разными исследовательскими группами. Стоит отметить, что механизмы цитотоксической активности макрофагов до сих пор не изучены в полной мере. Разработанная Подлесной П.А. модель позволяет изучать различные механизмы цитотоксической активности этих клеток: контакт-зависимый и не зависимый от прямого взаимодействия с таргетной клеткой.

Таким образом актуальность исследования Подлесной Полины Алексеевны, посвященное изучению роли цитотоксической активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы, не вызывает сомнений.

### Научная новизна

В соответствии с M1/M2-дихотомией макрофаги разделены на M1 (провоспалительный) и M2 (противовоспалительный) фенотипы. Долгое время считалось, что в контексте опухоли, M1 макрофаги обладают противоопухолевыми функциями, способствуя элиминации злокачественного новообразования, в то время как M2 макрофаги, напротив, способствуют прогрессии заболевания. В связи с чем одной из иммунотерапевтических тактик была предложена стратегия активации цитотоксической активности опухоль-ассоциированных макрофагов (так называемая тактика реполяризации макрофагов). Данная стратегия не получила широкого распространения ввиду низкой эффективности. Совокупность данных, полученных в результате диссертационного исследования Подлесной П.А., указывают на то, что цитотоксические макрофаги могут способствовать прогрессии опухоли, что может объяснить причину неэффективности тактики реполяризации макрофагов в контексте лечения онкологических заболеваний. Такой тип взаимодействия M1 макрофагов и опухолевых клеток описан впервые. Разработанная Подлесной П.А. клеточная модель позволяет изучать длительную экспозицию опухолевых клеток к цитотоксическим факторам макрофагов, достаточную для формирования таких качественных изменений опухолевых клеток, как изменение экспрессии генов, метаболизма, что, в совокупности, может привести к изменению фенотипа опухолевых клеток.

В ходе диссертационной работы Подлесной П.А. впервые были получены сублинии РПЖ, устойчивые к цитотоксическому действию макрофагов, описаны их функциональные характеристики *in vitro* и *in vivo*, проведено исследование дифференциальной экспрессии генов относительно контрольных линий. Впервые выявлены механизмы приобретения устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов.

Результаты иммуногистохимического (ИГХ) исследования, проведенного Подлесной П.А., позволили выявить ряд новых особенностей формирования иммуносупрессорного микроокружения РПЖ, а также описать ассоциации

содержания супрессорных иммунных клеток стромы с клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Результаты проведенного исследования расширяют наше понимание о механизмах опухолевой прогрессии и представляют интерес для разработки новых иммунотерапевтических стратегий, которые могут помочь преодолеть проблему резистентности опухолевых клеток к терапии.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и практических рекомендаций**

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертационной работе Подлесной П.А., обусловлена достаточным объемом исследований, обширной методической базой, использованием *in vitro* и *in vivo* методов исследования, а также таких современных методов диагностики, как высокопроизводительное секвенирование РНК. Продуманный дизайн, системный комплексный подход к научному анализу с применением статистических методов с анализом результатов и их сравнении с другими мировыми исследованиями являются свидетельством высокой достоверности заключений и выводов, сформулированных в работе. На основании полученных данных даны практические рекомендации по методам исследования цитотоксической активности макрофагов и их роли в опухолевой прогрессии. Данные опубликованы в научных изданиях, доступных как для отечественных, так и для зарубежных читателей.

По теме диссертации опубликована 31 научная работа, из них 7 статей – в журналах, рекомендованных высшей аттестационной комиссией при министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

Автором проведен самостоятельный анализ научной литературы, изучена степень разработанности проблемы. Обработка, анализ и оценка результатов всех исследований, указанных в диссертации, проведены лично Подлесной П.А.

## **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа Подлесной П.А. оформлена в классическом стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания методики исследования, полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Диссертация Подлесной П.А. изложена на 144 страницах машинописного текста, содержит 14 таблиц и иллюстрирована 36 рисунками. Список литературы включает 282 источника отечественной и зарубежной литературы, охватывающих период с 1994 по 2023 годы.

В главе «**Введение**» Подлесной П.А. дана общая характеристика и актуальность изучаемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, показана новизна и практическая значимость работы, обозначен личный вклад автора в выполнение работы.

Глава «**Обзор литературы**» состоит из 10 разделов и содержит актуальные сведения о функциях макрофагов в норме и патологии, их роли в канцерогенезе, существующих терапевтических тактиках, направленных на макрофаги, ассоциированные с опухолью, представлены данные об этиологии, эпидемиологии и методах лечения рака предстательной железы. Содержание обзора литературы свидетельствует о всестороннем изучении Подлесной П.А. современного состояния решаемой научной проблемы.

В главе «**Материалы и методы**» диссертантом подробно описаны методы, использованные для решения поставленных задач. Автор использовал широкий спектр современных методов исследования, включая высокопроизводительное РНК секвенирование, ПЦР в режиме реального времени, иммунологические методы исследования (ИГХ, ИЦХ, ИФА), биохимические (вестерн-блот, желатиназная зимография), методы экспериментальной и клинической онкологии (эксперименты на моделях опухолей *in vivo*, культурах опухолевых клеток, совместное культивирование клеток разных линий, а также анализ образцов опухолевого материала от пациентов). Данные представлены структурированно и подробно.

В главе «**Результаты исследования**» автор последовательно изложил основные этапы представленной диссертационной работы. На первом этапе автором была создана клеточная модель сокультивирования макрофагов и опухолевых клеток и получены сублинии опухолевых клеток, устойчивые к данному воздействию. Далее автором были изучены характеристики полученных устойчивых сублиний *in vivo*, а также проведен анализ транскриптома контрольных и устойчивых сублиний, определены дифференциально экспрессирующиеся гены. Стоит отметить, что достоверность данных секвенирования подтверждена методом ПЦР в режиме реального времени. Далее автором представлены результаты функционального анализа сублиний опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксической активности макрофагов *in vitro*, приведены результаты исследования фенотипа стромальных иммунокомпетентных клеток РПЖ методом ИГХ и их ассоциаций с клинко-морфологическими характеристиками пациентов.

В главе «**Обсуждение результатов**» содержится анализ полученных данных, в которых автор последовательно аргументирует результаты собственных исследований и логично сопоставляет их с данными, опубликованными в мировой научной литературе, а также высказывает собственные идеи о выявленных закономерностях и их перспективности для дальнейших исследований в представленной тематике.

В главе «**Заключение**» лаконично и логично в соответствии с результатами исследований подведены итоги представленной работы.

Диссертационная работа содержит 7 выводов, которые четко сформулированы, резюмируют полученные данные и полностью соответствуют поставленным задачам.

Актуальность, новизна и достоверность данных, полученных в результате представленного исследования, не вызывает сомнений, однако при анализе диссертации Подлесной П.А. возник ряд замечаний:

1. Диссертационная работа и автореферат содержат достаточно большое число графиков. Однако в подрисуночных подписях не указано на основании каких значений построены эти графики. Вероятно, это средние значения. Однако в статистических методах автор приводят статистические критерии для выборок, в которых распределение признаков не соответствует нормальному закону. В таком случае корректно представлять графики в виде медиан с указанием соответствующих квартилей. Кроме того, в подрисуночных подписях практически отсутствует указание на то, что было взято для построения планок погрешности, только в некоторых случаях указано, что это стандартное отклонение.

2. Автор приводит в работе фотографии окрашенных мембран при вестерн-блот исследовании. В приведенных фотографиях отсутствуют маркеры массы, и указания на массу исследуемых белков, кроме того изображения мембран представляют собой вырезанные фрагменты из целых мембран, которые в таком случае тоже необходимо приводить.

Высказанные комментарии и замечания имеют отношения к оформлению работы и не касаются ее сути, поэтому не снижают высокой научной ценности представленной диссертационной работы.

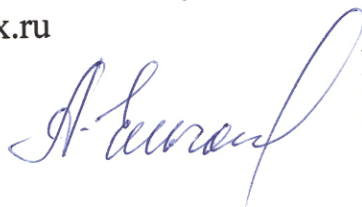
### **Заключение**

Диссертация Подлесной П.А. на тему: «Роль цитотоксической активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы» является научной квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок описан новый тип взаимодействия M1 макрофагов и опухолевых клеток. Представленная диссертационная работа посвящена разрешению актуальной для онкологии научной проблемы понимания механизмов взаимодействия цитотоксических макрофагов и злокачественных клеток организма, роли цитотоксической

активности в прогрессии онкологического заболевания. Диссертационная работа соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

*Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России*

Заведующий лабораторией роста и развития  
НИИ морфологии человека имени академика  
А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени  
академика Б.В. Петровского»  
доктор медицинских наук, доцент  
(03.03.04 (1.5.22.) – гистология, цитология,  
клеточная биология, медицинские науки),  
e-mail: elchandreya@yandex.ru



Ельчанинов Андрей  
Владимирович

27.02.2024 г.

Подпись д.м.н. Ельчанинова А.В. заверяю:  
Ученый секретарь  
ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского»,

д.м.н., доцент



 Михайлова Анна Андреевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

Адрес: 119991, Россия, Москва, ГСП-1, Абрикосовский пер., д.2. Тел. 8-499-766-47-05, e-mail: [nrcs@med.ru](mailto:nrcs@med.ru), <https://new.med.ru/ru>