

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01, СОЗДАННОГО  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от «28» марта 2024 г., № 7

О присуждении Подлесной Полине Алексеевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль цитотоксической активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия принята к защите 23 ноября 2023 года (протокол заседания №32) диссертационным советом 21.1.032.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, приказ о создании диссертационного совета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012 г., №561/нк от 03.06.2021 г..

Соискатель Подлесная Полина Алексеевна, «09» мая 1995 года рождения.

В 2019 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» по специальности «Биотехнология».

Работает в должности научного сотрудника лаборатории биологии стромальных клеток опухолей научно-исследовательского института (НИИ) канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории биологии стромальных клеток опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

**Научный руководитель** - доктор биологических наук Грачев Алексей Николаевич, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ канцерогенеза, лаборатория биологии стромальных клеток опухолей, заведующий лабораторией, профессор РАН

**Официальные оппоненты:**

Завалишина Лариса Эдуардовна, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической анатомии, профессор кафедры;

Ельчанинов Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, лаборатория роста и развития, заведующий

дали положительные отзывы о диссертации.

**Ведущая организация** государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) имени Н.П. Напалкова», г. Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном Шелеховой Ксенией Владимировной, доктором медицинских наук, профессором, патологоанатомическое отделение, заведующий, указала, что диссертационная работа Подлесной Полины Алексеевны на тему «Роль цитотоксической

активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы» является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором сформулированы научные положения, совокупность которых может быть квалифицирована как решение важной задачи понимания механизмов устойчивости опухолей к цитотоксическому действию клеток иммунитета, что актуально для фундаментальной онкологии. По своей актуальности, научной новизне, теоретической значимости, объему проведенного исследования, глубине анализа полученных данных и их достоверности, диссертационная работа Подлесной П.А. 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 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Подлесная Полина Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Соискатель имеет 31 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации опубликована 31 работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 работ.

В опубликованных работах отражены результаты изучения фенотипа иммунокомпетентных клеток стромы рака предстательной железы и их клинической значимости; механизмы, участвующие в приобретении опухолевыми клетками устойчивости к цитотоксической активности макрофагов; фенотипические особенности опухолевых клеток, резистентных к цитотоксической активности макрофагов; разработанная клеточная модель для изучения механизмов формирования устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов *in vitro*.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 75%, объем научных изданий составляет 6,3 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. Подлесная, П.А. Механизм развития толерантности макрофагов в микроокружении опухоли / П.А. Подлесная, О.В. Ковалева, А.А. Петренко, А.Н. Грачев // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2021. – №4. – С. 250-254.
2. Подлесная, П.А. Клиническая значимость фенотипа иммунных клеток опухолевой стромы рака предстательной железы / П.А. Подлесная, О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, А.А. Петренко, В.В. Мочальникова, А.Н. Грачев // Успехи молекулярной онкологии. – 2022. – №1. - Т.9. – С. 8-19.
3. Podlesnaya, P.A. Cytotoxic activity of macrophages as a tumor malignancy factor / P.A. Podlesnaya, O.V. Kovaleva, A.A. Petrenko, A.N. Gratchev // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2022. – №1. - V.174. – P. 147-151.
4. Ковалева, О.В. Иммуносупрессорные особенности фенотипа стромы опухолей почки различных гистологических типов / О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная, Р.М. Табиев, Н.В. Кунцевич, Г.Д. Ефремов, Б.Я. Алексеев, А.Н. Грачев // Онкоурология. – 2020. – Т. 16, № 2. – С. 29-35. (журнал ВАК).
5. Kovaleva, O.V. Immunosuppressive Phenotype of Esophagus Tumors Stroma / O.V. Kovaleva, M.A. Rashidova, D.V. Samoiloa, P.A. Podlesnaya, V.V. Mochalnikova, A. Gratchev // Analytical Cellular Pathology. – V. 20, No 5424780 (журнал ВАК, SCOPUS).
6. Kovaleva, O. Lung Microbiome Differentially Impacts Survival of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Depending on Tumor Stroma Phenotype / O. Kovaleva, P. Podlesnaya, M. Rashidova, D. Samoiloa, A. Petrenko, I. Zborovskaya, V.

Mochalnikova, V. Kataev, Y. Khlopko, A. Plotnikov, A. Gratchev // *Biomedicines*. – 2020. – V. 8, No 9. – P. 349. (журнал ВАК, SCOPUS).

7. Kovaleva, O.V. CHID1 Is a Novel Prognostic Marker of Non-Small Cell Lung Cancer / O.V. Kovaleva, M.A. Rashidova, D.V. Samoilova, P.A. Podlesnaya, R.M. Tabiev, V.M. Mochalnikova, A. Gratchev // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – V. 22, No 1. – P. 450. (журнал ВАК, SCOPUS).

8. Kovaleva, O. Prognostic Significance of the Microbiome and Stromal Cells Phenotype in Esophagus Squamous Cell Carcinoma / O. Kovaleva, P. Podlesnaya, M. Rashidova, D. Samoilova, A. Petrenko, V. Mochalnikova, V. Kataev, Y. Khlopko, A. Plotnikov, A. Gratchev // *Biomedicines*. – 2021. – V. 9, No 7. – P. 743. (журнал ВАК, SCOPUS).

9. Стилиди, И.С. Белки sPD-1/sPD-L1 при немелкоклеточном раке легкого и плоскоклеточном раке пищевода / И.М. Стилиди, О.В. Ковалева, А.Н. Грачев, Е.М. Чевкина, П.А. Подлесная, П.В. Царапаев, Э.А. Сулейманов, Н.Е. Кушлинский // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 96-104. (журнал ВАК).

10. Kovaleva, O.V. Macrophage phenotype predicts RCC patient's survival and tumor microbiome composition / O.V. Kovaleva, P. Podlesnaya, M. Sorokin, V. Mochalnikova, V. Kataev, Y.A. Khlopko, A.O. Plotnikov, N.E. Kushlinskii, A. Gratchev // *Biomedicines*. – 2022. – V. 10, No 7. – P. 1516. (журнал ВАК, SCOPUS).

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы из:**

ООО «Научно-исследовательский институт атеросклероза», г. Москва. Отзыв подписан Никифоровым Никитой Геннадьевичем, доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией ангиопатологии. В отзыве указано, что диссертация Подлесной П.А. самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором сформулированы научные положения, совокупность которых может быть квалифицирована как решение важной задачи понимания механизмов устойчивости опухолей к цитотоксическому действию клеток иммунитета, что актуально для фундаментальной онкологии. По своей актуальности, научной новизне,

теоретической значимости, объему проведенного исследования, глубине анализа полученных данных и их достоверности полученных результатов 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, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», г. Москва. Отзыв подписан Синёвым Василием Владимировичем, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына. В отзыве указано, что диссертационная работа П.А. Подлесной является зрелой научно-квалификационной работой, в которой были выполнены все поставленные задачи по изучению механизмов формирования устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов. Работа является актуальной, имеет большую фундаментальную и практическую значимость, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Таким образом, 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, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия;

федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва. Отзыв подписан Мочальниковой Валерией Васильевной, кандидатом медицинских наук, врачом-патологоанатомом Централизованного патологоанатомического отделения. В отзыве указано, что диссертационная работа Подлесной П.А. является законченным самостоятельным научно-квалификационным исследованием, в котором сформулированы научные положения, совокупность которых может быть квалифицирована как решение важной задачи понимания роли цитотоксической активности макрофагов в уходе из-под иммунологического надзора клеток опухоли предстательной железы, что актуально для фундаментальной онкологии. По актуальности, новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертационная работа Подлесной П.А. соответствует 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, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786), 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.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Ельчанинов Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, и Завалишина Лариса Эдуардовна, доктор биологических наук, выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, являющихся экспертами по специальности диссертации, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.**

Ведущая организация выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области клинической онкологии, способный определить научную

и практическую ценность диссертации, и имеющих ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработана** новая уникальная экспериментальная клеточная модель, позволившая выявить качественно новые закономерности взаимодействия макрофагов цитотоксического фенотипа и опухолевых клеток;

**предложены** оригинальная научная гипотеза о том, что под действием цитотоксической активности макрофагов происходит формирование и отбор опухолевых клеток более злокачественного фенотипа; новые методы изучения клеточных взаимодействий;

**доказана** гипотеза о том, что при длительном контактом сокультивировании цитотоксических макрофагов и опухолевых клеток происходит отбор клонов опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксической активности макрофагов. Такой тип взаимодействия макрофагов и опухолевых клеток описан впервые;

**введены** в практику разработанная клеточная модель сокультивирования макрофагов и опухолевых клеток, позволяющая изучать механизмы цитотоксической активности макрофагов, а также получать клоны опухолевых клеток, устойчивые к данному воздействию; практические рекомендации по методам дифференцировки клеток миелоидного ряда в цитотоксические макрофаги, а также методам оценки цитотоксического потенциала макрофагов в разработанной модели.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказано**, что только при контакт-зависимом механизме цитотоксической активности макрофагов в опухолевых клетках формируется резистентность к данному воздействию; с приобретением устойчивости к цитотоксической активности макрофагов опухолевые клетки формируют более злокачественный



потенциал как *in vitro*, так и *in vivo*;

применительно к проблематике диссертации результативно **использован** комплекс молекулярно-биологических, иммунологических и биохимических методов исследования, а также методов экспериментальной и клинической онкологии;

**изложены** доказательства того, что под действием цитотоксической активности макрофагов формируются и отбираются клоны опухолевых клеток, устойчивые к данному воздействию. Изложены идеи для предотвращения формирования такого вида резистентности опухолевых клеток. Доказано, что устойчивые опухолевые клетки обладают более злокачественным фенотипом по сравнению с исходными опухолевыми клетками *in vitro* и *in vivo*. В работе изложены оптимальные условия для дифференцировки миелоидных клеточных линий в макрофаги цитотоксического фенотипа; описан фенотип иммунокомпетентных стромальных клеток рака предстательной железы и их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками заболевания, определены тенденции роли иммунных клеток стромы в прогрессии рака предстательной железы;

**раскрыты** механизмы формирования резистентности опухолевых клеток предстательной железы к цитотоксическому действию макрофагов, которые обусловлены контактным взаимодействием опухолевых и иммунных клеток. Показано, что данное взаимодействие ведет к формированию более злокачественного фенотипа опухолевых клеток. Такой тип взаимодействия опухолевых клеток предстательной железы и цитотоксических макрофагов описан впервые. Выявлена новая проблема возможной роли длинных некодирующих РНК (днРНК) в механизмах ухода опухолевых клеток из-под иммунологического надзора. Определена клиническая значимость клеточного состава воспалительного инфильтрата опухолей предстательной железы;

**изучены** механизмы, обуславливающие формирование резистентности опухолевых клеток предстательной железы к цитотоксической активности макрофагов. Показано, что резистентные клетки обладают большей

туморогенностью, обусловленной, в частности, активацией процессов эпителиально-мезенхимального перехода, киназы p38 и aberrантной экспрессией ряда генов функциональных белков и днРНК;

**проведена модернизация** условий сокультивирования клеток различных клеточных линий; дифференцировки клеток миелоидного ряда в провоспалительные макрофаги и методов оценки их цитотоксической активности. Проведена модернизация иммуногистохимического метода оценки макрофагов в строме рака предстательной железы.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**разработаны и внедрены** в научно-исследовательскую работу универсальные клеточные технологии, позволяющие как изучать механизмы цитотоксической активности макрофагов, так и получать опухолевые клетки, устойчивые к данному воздействию;

**определены** клиническая значимость клеточного состава воспалительного инфильтрата опухолей предстательной железы и перспективные мишени для преодоления резистентности опухолевых клеток к цитотоксическому действию макрофагов;

**создана** клеточная модель для изучения механизмов формирования устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов *in vitro*;

**представлены** данные о детерминантах устойчивости опухолевых клеток предстательной железы к цитотоксическому действию макрофагов, на основании которых могут быть разработаны эффективные стратегии преодоления такого вида резистентности и усовершенствование имеющихся тактик иммунотерапевтического лечения онкологических заболеваний.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

результаты получены на большом экспериментальном материале, с корректным применением обширной методической базы, показана воспроизводимость результатов исследования;

**теория** построена на известных данных о том, что макрофаги составляют превалирующую популяцию опухоль-ассоциированных иммунных клеток, вместе с тем терапевтические стратегии, направленные на активацию цитотоксической активности макрофагов в строме опухоли, не получили широкого распространения ввиду низкой эффективности;

**идея базируется** на обобщении передового опыта, указывающего на пластичность опухолевых клеток и их возможности развивать устойчивость к иммунному ответу и действию терапевтических препаратов;

**использованы** современные данные фундаментальной онкологии, иммунологии, молекулярной и клеточной биологии, свидетельствующие о критической роли макрофагов в прогрессии онкологического заболевания, с которыми согласуются авторские данные;

**установлено** качественное совпадение авторских результатов исследования взаимодействия опухолевых клеток и цитотоксических макрофагов и описания фенотипа клеток воспалительного инфильтрата опухолевой стромы рака предстательной железы и их ассоциаций с клинико-морфологическими характеристиками заболевания с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** современные молекулярно-биологические (ПЦР, секвенирование), иммунологические (ИФА, ИЦХ, ИГХ), биохимические (вестерн-блот, желатиназная зимография) методы исследования, а также методы экспериментальной и клинической онкологии (эксперименты на культурах опухолевых клеток, моделях опухолей *in vivo*); современные методики сбора и обработки исходных данных, для анализа которых использовались адекватные методы статистического анализа.

**Личный вклад соискателя состоит в:** личном участии на всех этапах работы, постановке целей и задач исследования; непосредственном участии соискателя в получении исходных данных и научных экспериментах; включенном участии в разработке плана исследования и экспериментальных моделей; личном участии в обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке

основных публикаций по выполненной работе, презентации полученных данных на научных конференциях.

Соискатель Подлесная Полина Алексеевна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию

На заседании «28» марта 2024 года диссертационный совет принял решение: за решение актуальной научной задачи – описание нового типа взаимодействия цитотоксических макрофагов и опухолевых клеток, приводящего к развитию резистентности, а также определение механизмов формирования устойчивости опухолевых клеток к цитотоксическому действию макрофагов, имеющей важное значение для развития фундаментальной онкологии, присудить Подлесной П.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия «биологические науки», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 17, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председательствующий  
диссертационного совета,

д.б.н., профессор

Красильников М.А.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,

д.б.н.

28 марта 2024 г.



Заболотная Т.Н.