

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Сорокиной Ирины Васильевны на диссертационную работу Студеникиной Анастасии Александровны «Влияние поликлональных активаторов и Human Leukemia Differentiation Factor на продукцию цитокинов образцами ткани при заболеваниях молочной железы», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия

Еще недавно считалось, что возникновение и развитие доброкачественных и злокачественных опухолей связано в основном с ослаблением или нарушением иммунологического надзора, однако все более очевидно, что эти взаимоотношения носят сложный характер. Хорошо известно, что опухолевые клетки способны избегать механизм иммунного распознавания, оказывая иммуносупрессорное действие. В то же время клетки иммунной системы, как было показано, могут проявлять как ингибирующий, так и стимулирующий эффект на опухоль, в том числе непосредственно в ее микроокружении. Отсюда возникла идея иммунологического редактирования канцерогенеза, основанная на дифференцирующей терапии, которая направлена на трансформацию низкодифференцированных раковых клеток в менее злокачественный фенотип, при котором опухоль становится более чувствительной к классической противоопухолевой терапии.

В настоящее время дифференцирующая терапия рассматривается как один из перспективных терапевтических подходов в дополнение к стандартным методам лечения опухолей, однако ее принципы и патогенетические механизмы нуждаются в серьезном экспериментальном и клиническом изучении. Первоочередной задачей в этой связи становится исследование влияния иммунологических факторов на клеточные механизмы и биохимические процессы, вовлеченные в патогенез доброкачественных и злокачественных новообразований и поиск чувствительных маркеров для оценки злокачественной прогрессии, а также риска малигнизации при незлокачественных заболеваниях.

Диссертационная работа А.А. Студеникиной, посвящена исследованию цитокинового профиля ткани молочной железы, в условиях воздействия на неё

различных дифференцирующих агентов (комплекса поликлональных активаторов и фактора дифференцировки - Human Leukemia Differentiation Factor), а также анализу экспрессии маркёров эпителиально-мезенхимального перехода у больных злокачественным и незлокачественными заболеваниями молочной железы. Актуальность исследования непосредственно связана с решением рассмотренных выше проблем, выбор объекта исследования обусловлен высокой распространённостью рака молочной железы в мире и среди населения Российской Федерации. Изучение маркёров эпителиально-мезенхимального перехода непосредственно в опухолевом материале имеет важное значение для понимания механизма прогрессирования злокачественного роста молочной железы.

Степень достоверности диссертационной работы А.А. Студеникиной обеспечена тщательным формированием групп больных для отбора клинического материала, исключая влияние предшествующей терапии и острых заболеваний, удовлетворяющим биоэтическим нормам и статистическим критериям. В работе использованы современные методы анализа: полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, твердофазный иммуноферментный анализ, иммуно-гистохимическое исследование. Статистический анализ выполнен корректно.

Положения, выносимые на защиту, подтверждаются результатами исследования. Выводы диссертационной работы соответствуют задачам исследования и отражают полученные данные. Материалы работы неоднократно докладывались на российских и международных научно-практических конференциях. По теме диссертационного исследования опубликовано 5 работ в научных рецензируемых журналах, входящих в базу данных Scopus.

Значимость для науки и практики. В работе выявлены особенности экспрессии цитокинового профиля в образцах ткани молочной железы при незлокачественном и злокачественном процессах. В первом случае (НЗМЖ) индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на продукцию TNF- α клетками молочной железы выше в сравнении с инвазивной карциномой неспецифического типа (ИКНТ). Также показано влияние пролиферации и метастазирования на этот показатель. Выявлены как прямые коррелятивные связи ИВПА в отсутствие лимфогенного метастазирования на продукцию ряда цитокинов (IL-6, IL-8, IL-18 и

G-CSF) и экспрессию коллагена II типа (CII); так и обратные корреляционные связи между экспрессией кадгерина-E (CDH1) и ИВПА на продукцию TNF- α . При лимфогенном метастазировании отмечены прямые корреляционные связи между экспрессией β -1-интегрина (CD29) и ИВПА на продукцию IL-6, IL-1Ra, G-CSF и VEGF и между ИВПА на продукцию IL-1 β и экспрессию коллагена CII.

Впервые установлено, что у больных с инвазивной карциномой фактор дифференцировки HLDF супрессирует продукцию цитокинов в опухолях пациентов, характеризующихся сочетанием отрицательной экспрессии рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR) и эпидермального фактора роста человека (HER2) с отсутствием лимфогенного метастазирования, у таких пациентов индекс влияния фактора HLDF на продукцию IL-6, IL-8 и TNF- α ниже по сравнению с пациентами с положительной экспрессией рецепторов ER, PR и редко встречающимся лимфогенным метастазированием, а индекс влияния HLDF на продукцию GM-CSF и MCP-1 ниже по сравнению с пациентами с лимфогенным метастазированием и отрицательной экспрессией рецепторов ER, PR и HER2.

Результаты исследования расширяют представление о роли цитокиновой сети в вероятности малигнизации при незлокачественных заболеваниях молочной железы. В частности, благодаря найденной сопряженности между продукцией IL-1 β и наличием пролиферативных изменений, у пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы можно использовать индекс влияния поликлональных активаторов на продукцию IL-1 β в качестве маркера пролиферации. Сниженный показатель продукции IL-17A сопряжен с наличием лимфогенного метастазирования у пациентов с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа и может создать основу для разработки новых подходов в индивидуализации диагностики пациентов.

Содержание и оформление диссертационной работы. Диссертация написана по традиционной схеме, изложена на 109 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения и заключения. Библиография насчитывает 236 источников (5 – отечественных авторов, 231 – зарубежных).

Обзор литературы изложен на 27 страницах, что составляет 29% всего диссертационного материала. Обзор состоит из трёх частей. Первая часть даёт

общее представление о цитокинах и их влиянии на иммунный ответ и опухолевую прогрессию. Приведено описание клеток микроокружения опухоли применительно к их участию в продукции цитокинов при раке молочной железы. Вторая часть посвящена описанию клинической классификации опухолевых заболеваний молочной железы и краткой характеристике особенностей злокачественного и доброкачественного процесса, описание факторов риска развития рака молочной железы. Третья часть обзора посвящена характеристике и роли эпителиально-мезенхимального перехода при злокачественной прогрессии молочной железы. Помимо этого, в данной части обзора дана характеристика поликлональных активаторов и Human Leukemia Differentiation Factor. В целом обзор даёт достаточно полное представление о рассматриваемых вопросах, логично выстроен, подавляющее число цитируемых работ опубликовано за последние 5 лет (2015-2020 годы).

В главе **«Материалы и методы исследования»** подробно описано ранжирование 146 пациентов в зависимости от характера патологического процесса (злокачественный, незлокачественный); наличия метастазов при злокачественной форме; от принадлежности к группе по риску малигнизации (наличие или отсутствие пролиферативных изменений) при незлокачественной форме, а также в зависимости от экспрессии биомаркёров (рецептора эстрогена, прогестерона и рецептора эпидермального фактора роста человека 2). Приведено распределение пациентов согласно более прогрессивной классификации: 8-ого издания комитета The American Joint Committee on Cancer (AJCC). Используемые методы современны и адекватны поставленным задачам.

Результаты собственных исследований описаны в шести главах, изложенных на 28 страницах, иллюстрированы 7 рисунками и 12 таблицами. Первая глава посвящена сравнению экспрессии мРНК цитокинов с их концентрацией в кондиционной среде клеток промоноцитарного миелоидного лейкоза человека U937 после воздействия на них поликлональных активаторов. Во второй и третьей главах автор исследует цитокин-продуцирующую активность образцов тканей молочной железы при наличии или отсутствии лимфогенного метастазирования у пациентов с раком молочной железы, а также при наличии или отсутствии пролиферативных изменений у пациентов с незлокачественными

заболеваниями молочной железы. Четвёртая и пятая главы посвящены оценке экспрессии маркёров эпителиально-мезенхимального перехода в ткани молочной железы с последующим изучением взаимосвязи между цитокин-продуцирующей активностью и экспрессией маркёров эпителиально-мезенхимального перехода у пациентов со злокачественным и незлокачественными заболеваниями молочной железы. Последняя глава касается исследования влияния фактора дифференцировки - Human Leukemia Differentiation Factor на цитокины образцов опухолей больных с инвазивной карциномой неспецифического типа распределённым согласно патологическим прогностическим критериям.

В целом можно сказать, что результаты работы Анастасии Александровны представляют собой обширные данные по широкому спектру доступных для инструментального исследования цитокинов и маркеров инвазии, характеризующих течение доброкачественного и злокачественного процессов в тканях молочной железы. Прослежена их зависимость от выраженности пролиферативного или метастатического процесса, соответственно при доброкачественной или злокачественной опухоли. Наличие большого количества зависимых и не зависимых факторов, определяющих дизайн данного исследования, может вызывать определенные трудности при интерпретации результатов. В главе, посвященной обсуждению, Анастасия Александровна применила корреляционный анализ и привлекла литературные данные для интерпретации эффектов данных цитокинов в иммунной системе. В этой части обсуждение носит в основном предположительный характер и использование литературных данных, полученных в иных условиях, не всегда корректно. Однако, отмеченная широкая интерпретация выходит за рамки, обозначенные целью и задачами настоящего исследования и не влияет на достоверность собственных результатов и выводов автора. Поэтому замечаний по представленной работе не имею.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Студеникиной Анастасии Александровны «Влияние поликлональных активаторов и Human Leukemia Differentiation Factor на продукцию цитокинов образцами ткани при заболеваниях молочной железы» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой. По своей актуальности, методическому уровню, научной новизне, теоретической и

практической значимости квалификационная работа соответствует требованиям п.9., предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным Положением о порядке присуждения учёных степеней, утверждённых постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, (в редакции Постановления Правительства РФ №1168 от 01.10.2018 г.), а её автор заслуживает учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

ведущий научный сотрудник лаборатории
фармакологических исследований
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Новосибирского института
органической химии им. Н.Н.Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук,
доктор биологических наук
по специальности 03.03.04 - клеточная
биология, цитология, гистология,
14.03.06 - фармакология,
клиническая фармакология

 Сорокина Ирина Васильевна

Адрес учреждения:
630090, г. Новосибирск, пр
Лаврентьева, 9. Тел. (383)35
e-mail: sorokina@nioch.nsc.ru
«10» апреля 2018 г.

Подпись Сорокиной И.В. в
Ученый секретарь НИОХ

Бредихин Р.А.