

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Директор ФГБУ «РНЦРР»

Минздрава России

д.м.н., профессор, академик РАН

В. А. Солодкий

2022 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертации Ковалевой Ольги Владимировны на тему «Взаимодействие микробиома и иммунокомпетентных клеток стромы в прогрессии опухолей», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.**

#### **Актуальность темы диссертации**

Диссертация Ковалевой Ольги Владимировны посвящена изучению взаимодействию различных компонентов опухолевого микроокружения и их вкладу в прогрессию онкологических заболеваний. На сегодняшний день становится все более очевидным, что для эффективного прогнозирования и мониторинга течения заболевания необходимо развивать подходы, основанные на анализе сочетаний различных маркеров, и именно такой комплексный анализ позволяет достигнуть лучших результатов последующей терапии. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) был и остается серьезной проблемой современного здравоохранения. Рак пищевода встречается реже НМРЛ, однако также является социально значимым типом заболевания, характеризующимся быстрым течением и неблагоприятным прогнозом. Поиск новых методов оценки прогрессии и маркеров данных типов злокачественных новообразований является

актуальной задачей фундаментальной онкологии.

### **Связь темы диссертации с планом основных научных работ**

Диссертационная работа О. В. Ковалевой посвящена исследованию механизмов взаимодействия микробиологической и иммунологической составляющих опухолевой стромы и выявлению роли этого взаимодействия в малигнизации клеток и опухолевой прогрессии немелкоклеточного рака легкого, что соответствует современному направлению медицинской науки и практики. Научно-квалификационная работа выполнена по плану научно-исследовательского института канцерогенеза федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В работе впервые проведен комплексный анализ общей бактериальной нагрузки в опухолевой ткани и фенотипа иммунных клеток опухолевой стромы при НМРЛ. Показано, что высокая экспрессия воспалительного фактора iNOS в совокупности с повышенной бактериальной нагрузкой является маркером хорошего прогноза, а высокая бактериальная нагрузка опухоли с иммуносупрессией является маркером плохого прогноза при НМРЛ.

В данном исследовании описано два новых прогностических маркера НМРЛ и подтверждена значимость ряда других. Впервые показано, что хитиназоподобный белок CHID1 экспрессируется опухолевыми клетками легкого, и его экспрессия зависит от гистологического типа опухоли. Также впервые показано, что экспрессия CHID1 в опухолевых клетках является фактором благоприятного прогноза.

В качестве еще одного нового прогностического маркера НМРЛ описан макрофагальный транскрипционный фактор PU.1. Показано, что низкое содержание PU.1+ клеток в опухоли является фактором негативного прогноза для аденокарцином, и благоприятного прогноза для плоскоклеточного рака легкого.

Важным результатом работы является разработка новых подходов к оценке прогноза для плоскоклеточного рака пищевода. Впервые показано, что состав резидентного микробиома опухолей данной локализации в сочетании с характеристиками фенотипа клеток опухолевой стромы может служить достоверным прогностическим фактором. В целом в работе Ковалевой О. В. получен ряд приоритетных данных, новизна и актуальность которых не вызывает сомнений

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Результаты исследований Ковалевой О. В. имеют важное значение как с точки зрения развития современных представлений о механизмах опухолевой прогрессии, так и для разработки новых методов терапии опухолей, направленных на создание новых клеточных технологий с использованием макрофагов. Автором показано, что макрофаги цитотоксического фенотипа способствуют прогрессии опухоли, а не ее элиминации, что принципиально меняет взгляд на разрабатываемые ранее терапевтические стратегии. Положения, сформулированные автором диссертационной работы, вносят существенный вклад в дальнейшее развитие, как фундаментальной науки в области экспериментальной онкологии, так и прикладных исследований, направленных на разработку и совершенствование новых биотехнологических методов терапии онкологических заболеваний.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Научные положения и выводы диссертационной работы О. В. Ковалевой представляют интерес для специалистов в области фундаментальной и клинической онкологии, патологической анатомии и иммунологии. В проведенной работе описаны новые прогностические маркеры НМРЛ и рака пищевода, которые имеют высокий потенциал использования в клинической практике в контексте эффективной стратификации пациентов при выборе тактики лечения. Также анализ таксономического состава микробиома опухолей может быть использован для разработки новых диагностических методов

онкологических заболеваний.

### **Личный вклад автора**

Автором лично или при ее непосредственном участии выполнена вся научно-исследовательская работа, включая получение экспериментальных данных, биоинформационный анализ и статистическую обработку полученных результатов. Анализ литературных данных, подготовка материалов к публикации и написание статей по теме диссертации, а также оформление диссертации и автореферата выполнены автором самостоятельно.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертация О.В. Ковалевой написана в традиционном формате, изложена на 220 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы, включающих 389 литературных источников. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 89 рисунками. Основные положения диссертации отражены в 15 публикациях и 2 патентах.

Во «Введении» автор обосновывает актуальность исследования и степень научной новизны, формулирует цель и задачи исследования, описывает теоретическую и практическую значимость работы, внедрение результатов, методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и сведения об апробации результатов, а также научные публикации по теме диссертации.

В главе «Обзор литературы» представлен анализ литературных данных по теме исследования, которые дают представление о современном состоянии проблемы. Обзор хорошо структурирован, достаточно подробно очерчивает проблематику и подводит к формулировкам целей и задач работы. Автор приводит клинико-патогенетическую характеристику основных исследованных типов опухолей (немелкоклеточный рак легкого и плоскоклеточный рак пищевода), описывает связь возникновения и прогрессии онкологических заболеваний с хроническим воспалением. Особое внимание уделено детальной

характеристике опухолевого микроокружения (как его клеточному, так и микробиологическому компоненту), а также их взаимодействию. Отдельный раздел обзора литературы посвящен описанию влияния стромы и микробиома на опухолевую прогрессию, а также на выбор стратегии терапии злокачественных опухолей.

Глава «Материалы и методы» описывает экспериментальные модели и клинические образцы, использованные в процессе проведения исследований, а также основные методические подходы. Следует отметить, что автор использует очень широкий арсенал современных методов исследования — от молекулярно-биологических (молекулярное клонирование, полимеразная цепная реакция, секвенирование нового поколения), иммунологических (получение моноклональных антител, ИФА), биохимических (иммуноблоттинг), до методов экспериментальной и клинической онкологии (эксперименты на культурах опухолевых клеток, моделях опухолей *in vivo*, а также анализ образцов тканей методом иммуногистохимии и иммунофлуоресценции). Также в данной главе приводится подробное описание методов биоинформатической и статистической обработки результатов.

Глава «Результаты» содержит описание основных результатов собственных исследований, которые можно разделить на три группы: (1) анализ фенотипа иммунных клеток опухолевого микроокружения и поиск новых опухолевых и стромальных (главным образом, макрофагальных) прогностических маркеров, которые могут иметь важное клиническое значение при НМРЛ и раке пищевода; (2) качественный и количественный анализ бактериальной нагрузки и определение роли микробиома в опухолевой прогрессии НМРЛ и рака пищевода; (3) исследования механизмов отбора опухолевых клеток под действием цитотоксической активности клеток врожденного иммунитета, а также механизмов развития толерантности макрофагов опухолевого микроокружения.

Глава «Обсуждение» содержит подробный анализ полученных данных, их интерпретацию и сопоставление с данными литературы, а также освещает вклад полученных результатов в развитие современного состояния исследований.

Обсуждение результатов изложено полно и систематично.

В разделе «Заключение» автором подводятся итоги и обобщаются основные результаты проведенного исследования. На основе полученных результатов сформулировано 6 выводов, которые полностью отражают полученные результаты диссертационного исследования. Выводы написаны лаконично, четко сформулированы, полностью соответствую цели исследования и поставленным задачам.

Достоверность изложенных в работе результатов не вызывают сомнения. Все положения и выводы подтверждаются наличием независимых повторов и необходимых контролей в экспериментах на модельных системах, репрезентативностью выборки и статистической обработкой данных исследования клинических образцов, а также иллюстративным материалом, что убедительно доказывает обоснованность сделанных выводов. Работа написана на высоком научно-методическом уровне, иллюстрации информативны, пояснения к ним позволяют максимально полно оценить результаты исследования. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

### **Заключение**

Диссертационная работа Ковалевой Ольги Владимировны на тему «Взаимодействие микробиома и иммунокомпетентных клеток стромы в прогрессии опухолей» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное достижение в развитии перспективного направления в фундаментальной и клинической онкологии, основанного на комплексном подходе к изучению опухолевого микроокружения, а именно клеточного и микробиологического состава опухолевой стромы и их совместного влияния на течение и прогноз заболевания.

По новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертация 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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Отзыв обсужден и одобрен на научно-практической конференции отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации «14» 04 2022 года, протокол № 14.

Заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей  
ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России  
профессор, доктор медицинских наук (14.01.12. Онкология)

Боженко Владимир Константинович

Подпись д.м.н. В.К. Боженко «заверяю»

Ученый секретарь  
ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России  
доктор медицинских наук,  
профессор



Цаллагова З.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86

+7 (495) 333-91-20, mailbox@rncrr.ru, www.rncrr.ru