

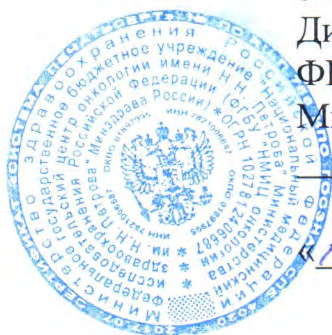
УТВЕРЖДАЮ

Директор

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России

А.М. Беляев



«17» _____ 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии» выполнена в научном отделе онкоиммунологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Ефремова Наталья Александровна работала в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности научного сотрудника научного отдела онкоиммунологии.

Ефремова Наталья Александровна с отличием окончила в 2001 году «Российский государственный медицинский университет», г. Москва, по специальности «педиатрия». В 2015 г. получила диплом о профессиональной переподготовке по специальности «Аллергология и иммунология» в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский Университет Дружбы Народов». В 2016-2017 гг. проходила обучение в клинической интернатуре по онкологии в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

С июня 2017 года Ефремова Н.А. работает в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в научном отделе онкоиммунологии (с 23.06.2017 в должности лаборанта-исследователя, с 01.03.2018 в должности научного сотрудника). С 16.10.2020 по внутреннему совместительству работает врачом-онкологом в КДО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Справка об обучении (сдаче кандидатских экзаменов по онкологии, философии, английскому языку) выдана в 2021 году федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский

исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Справка об обучении (сдаче кандидатского экзамена по клинической иммунологии, аллергологии) выдана в 2020 году федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Институт экспериментальной медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

- Балдуева Ирина Александровна, д.м.н., заведующий научным отделом онкоиммунологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
- Гафтон Георгий Иванович, д.м.н., заведующий научным отделением общей онкологии и урологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения диссертации «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 3.2.7. Аллергология и иммунология принято следующее заключение: диссертация является самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, имеющей элементы научной новизны, научно-практическое значение, посвященной повышению эффективности лечения больных метастатическими саркомками мягких тканей и остеогенными саркомками на основе изучения особенностей селекции опухолевых клеток *ex vivo*.

Актуальность представленного исследования

Опухолевая прогрессия - это сложный и многофакторный эволюционный процесс, заключающийся в конкурентном взаимодействии наиболее агрессивных опухолевых клонов. В этом случае, первоначально эффективная терапия, уничтожая доминирующие клоны опухоли, может способствовать пролиферации минорных субпопуляций и дальнейшей их клональной селекции. Поэтому разнообразие клонов и связанная с ним внутриопухолевая гетерогенность - одна из ключевых проблем при разработке новых методов лечения онкологических заболеваний.

Распространенные молекулярно-генетические исследования не могут оценить потенциал обнаруженных мутированных клонов к формированию метастатических ниш и способных в дальнейшем к репопуляции опухоли. Элиминация именно этих групп клеток должна иметь первостепенное значение в ходе противоопухолевого лечения.

Изучение метастатических сарком сталкивается со значительными трудностями, связанными с редкой встречаемостью этих злокачественных

новообразований, разнообразием их гистотипов и отсутствием достаточного количества экспериментальных моделей, доступных для исследований. Процессы, происходящие в опухоли при метастазировании и формировании химиорезистентности, нуждаются в подробном систематическом анализе, возможном при создании эффективных клеточных моделей *ex vivo*. Изучение процессов, происходящих на уровне опухолевых клонов, может способствовать разработке новых подходов противоопухолевого лечения и улучшить прогноз течения заболевания у пациентов с саркомами.

Научная новизна исследования

Впервые получены и охарактеризованы 54 клеточные линии метастатических СМТ и ОС 18 гистологических подтипов и 83 дочерних клон для клеточного моделирования процессов, происходящих в опухолях с высокой внутриопухолевой гетерогенностью. Получено 3 патента на изобретение.

Установлено, что клоногенность культур клеток СМТ и ОС может рассматриваться в качестве прогностического фактора, определяющего течение заболевания.

Длительное культивирование и клонирование клеток СМТ и ОС приводят к увеличению их пролиферативной активности и химиорезистентности. Культуры, полученные путем клонирования, могут рассматриваться как клеточные модели опухолей с высоким метастатическим потенциалом

Обнаружена связь клоногенности культивируемых клеток СМТ и ОС с экспрессией маркера стволовых клеток ALDH1.

Выявлена экспрессия генов *PASD1* и *SLLP1*, ранее неизвестная в миксофибросаркомах, остеосаркомах и дерматофибросаркоме. Установлена связь между экспрессией раково-тестикулярных генов и клоногенностью культивируемых клеток СМТ и ОС: клетки клоногенных опухолей отличались выраженной транскрипционной активностью генов *GAGE1* и *SLLP1* ($p < 0,05$).

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Достоверность результатов исследования подтверждается репрезентативностью выборки (в исследование скринировано 87 образцов опухоли пациентов, включено 54 клеточные линии и 83 клон), использованием разнообразных современных лабораторных методов исследований, а также корректной статистической обработкой данных.

Основные положения диссертации представлены на V Петербургском онкологическом Форуме «Белые ночи – 2019» (Санкт-Петербург, 2019 г.); Втором международном Форуме онкологии и радиологии (Москва, 2019 г.); V Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 2019 г.); VI Петербургском онкологическом Форуме «Белые ночи – 2020» (Санкт-Петербург, 28 июня 2020 г.); 12-й Международной мультikonференции «Биоинформатика регуляции и структуры генома/Системная биология» (Новосибирск, 2020 г.); Международной научной конференции «Инновационные исследования в биологии и медицине» (Сочи, 2020 г.); VII

Петербургском онкологическом Форуме «Белые ночи – 2021» (Санкт-Петербург, 2021 г.).

Практическая значимость исследования

Клоногенный характер культивируемых клеточных линий свидетельствует об агрессивном потенциале, что доказывает их высокая химиорезистентность, экспрессия маркеров стволовых клеток опухоли, транскрипционная активность раково-тестикулярных генов. Клоногенные клеточные линии могут быть использованы как модели резистентности для разработки новых способов лечения сарком.

Изменения в популяционном составе клеток иммунной системы у пациентов, опухолевые клетки которых в культуре характеризуются клоногенностью, демонстрируют истощение цитотоксических Т-лимфоцитов и активацию естественных киллеров, что может на уровне опухоли говорить о феномене ускользания от иммунологического ответа. Получение клеточных культур сарком из операционных образцов пациентов с оценкой их клоногенности может быть использовано для выявления неблагоприятных факторов прогноза заболевания и предикторов ответа на иммунотерапию.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в научно-практическую деятельность научного отдела онкоиммунологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личное участие автора в получении результатов:

Соискатель непосредственно принимала участие на всех этапах проведения исследования: в скрининге пациентов, получении клеточных линий сарком мягких тканей и остеогенных сарком из опухолевого материала пациентов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Соискатель самостоятельно выполняла пассирование клеточных культур, клонирование, оценку пролиферативной, инвазивной и миграционной активности опухолевых клеток, постановку и анализ МТТ-теста, исследования с использованием автоматического клеточного анализатора xCelligence, отбор и подготовку образцов для проведения генетических исследований, проточной цитометрии. Соискатель проводила сбор данных, статистическую обработку и анализ полученных результатов, на основании чего были самостоятельно сформулированы заключение, выводы и практические рекомендации по материалам исследования. На разных этапах работы полученные результаты были подготовлены для публикаций и представления на научно-практических мероприятиях различного уровня.

Соответствие содержания исследования заявленным специальностям

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия («медицинские науки») и паспорту специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология («медицинские науки»).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем:

Основное содержание работы изложено в 19 печатных работах, из них 4 в рецензируемых научных изданиях (ВАК), 2 статьи в международных журналах 2 квартала индексируемых в Scopus и WoS. Получено 3 патента РФ на изобретение.

В диссертации соискателя отсутствуют заимствования материалов или отдельных результатов без ссылок на автора или источник заимствования.

Список научных работ соискателя ученой степени, в которых опубликованы результаты диссертационной работы:

1. Авдонкина, Н.А. Современные представления о клональной эволюции сарком / Н.А. Авдонкина, А.Б. Данилова, Т.Л. Нехаева, И.А. Балдуева // Вопросы онкологии. – 2019. – Т.6, - №6. – С.798–806. doi: 10.37469/0507-3758-2019-65-6.
2. Авдонкина, Н.А. Получение и характеристика новых клеточных линий сарком мягких тканей и остеогенных сарком для трансляционных исследований / Н.А. Авдонкина, А.Б. Данилова, В.А. Мисюрин, Е.А. Просекина, Н.В. Емельянова, Т.Л. Нехаева, О.В. Скачкова, А.В. Новик, Н.П. Пипиа, Г.И. Гафтон, Е.В. Левченко, А.М. Беляев, И.А. Балдуева // Гены & Клетки. - 2020. – Т.15. – №3. – С.92–107. doi: 10.23868/202011014.
3. Данилова, А.Б. Сравнительный анализ миграционной активности и инвазивного потенциала культивируемых клеток солидных опухолей человека / А.Б. Данилова, Т.Л. Нехаева, В.А. Мисюрин, Н.А., Авдонкина, Н.В. Емельянова, И.А. Балдуева // Сибирский онкологический журнал. – 2020. – Т.19, - №3. – С.64–77. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-64-77.
4. Ефремова, Н.А. Иммунологические аспекты метронормальных режимов химиотерапии / Н.А. Ефремова, А.В. Новик, А.Ю. Зозуля, Т.Л. Нехаева, А.Б. Данилова, Н.В. Емельянова, Д.В. Гирдюк, Г.И. Гафтон, И.А. Балдуева // Фарматека. – 2021. – Т.28. – №7. – С.81–86. doi: 10.18565/pharmateca.2021.7.81-86.
5. Avdonkina, N.A. Biological features of tissue and bone sarcomas investigated using an in vitro model of clonal selection / N.A. Avdonkina, A.B. Danilova, V.A. Misyurin, E.A. Prosekina, D.V. Girdyuk, N.V. Emelyanova, T. L. Nekhaeva, G.I. Gafton, I.A. Baldueva // Pathology - Research and Practice. – 2020. – Т.217. – С.153214. doi: 10.1016/j.prp.2020.153214.

6. Avdonkina, N.A. Clinical and immunological characteristics of sarcomas patients with clonogenic tumors / N.A. Avdonkina, A.B. Danilova, T.L. Nekhaeva, E.A. Prosekina, N.V. Emelyanova, A.V. Novik, D.V. Girdyuk, G.I. Gafton, I.A. Baldueva // *Immunobiology*. – 2021. – Т.226. – №4. – С. 152094. doi: 10.1016/j.imbio.2021.152094.
7. Данилова, А.Б. Использование клеточных трехмерных моделей для оценки инвазивного потенциала клеток солидных опухолей / А.Б. Данилова, Е.А. Просекина, А.Р. Муслимов, Н.А. Авдонкина, Т.Л. Нехаева, Н.П. Пипиа, А.Ю. Зозуля, Г.И. Гафтон, В.Ф. Семиглазов, Е.В. Левченко, И.А. Балдуева // *Материалы V Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2019»*. Санкт-Петербург, АННОМО «Вопросы онкологии», 2019. – С.205.
8. Данилова, А.Б. Пролиферативные, миграционные и инвазивные свойства культивируемых клеток сарком мягких тканей и костей / А.Б. Данилова, Н.А. Авдонкина, И.А. Балдуева, Н.П. Пипиа, Г.И. Гафтон // *Материалы V Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2019»*. Санкт-Петербург, АННОМО «Вопросы онкологии», 2019. – С.212.
9. Балдуева, И.А. Анализ содержания CD 133+-стволовых опухолевых клеток (СОК) в культурах сарком мягких тканей (СМТ) и остеогенных саркомах (ОС) in vitro / И.А. Балдуева, А.Б. Данилова, Н.А. Авдонкина, Т.Л. Нехаева, А.В. Новик, Н.В. Емельянова, Д.В. Гирдюк, Н.П. Пипиа, А.Ю. Зозуля, И.Г. Гафтон, Ю.В. Семилетова, Г.И. Гафтон // *Материалы V Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2019»*. Санкт-Петербург, АННОМО «Вопросы онкологии», 2019. – С.232.
10. Нехаева, Т.Л. Организация банка биологических образцов однотипно пролеченных онкологических больных: современный подход к проведению фундаментальных и прикладных исследований / Т.Л. Нехаева, И.А. Балдуева, А.Б. Данилова, А.В. Новик, Н.П. Пипиа, Г.И. Гафтон, Ю.В. Семилетова, А.К. Носов, Н.А. Авдонкина, А.Ю. Зозуля, Н.В. Емельянова, М.Л. Блохина // *Тезисы Второго международного форума онкологии и радиологии*. Москва, сентябрь 2019 – М.: КВАЗАР, 2019. – С.204.
11. Авдонкина, Н.А. Прогностическая роль экспрессии альдегиддегидрогеназы культивируемыми клетками сарком мягких тканей и остеогенных сарком в определении их агрессивного потенциала / Н.А. Авдонкина, А.Б. Данилова, Т.Л. Нехаева, Е.А. Просекина, А.И. Кузнецова, Н.В. Емельянова, И.А. Балдуева // *Успехи молекулярной онкологии*. – 2019. – Т.6. – №4. – С.61–62.
12. Новик, А.В. Распространенность отклонений иммунологических показателей от референсных значений у больных солидными опухолями / А.В. Новик, Н.В. Емельянова, Т.Л. Нехаева, Н.П. Пипиа, А.Ю. Зозуля, Н.А. Авдонкина, А.И. Семенова, Д.Х. Латипова, Г.М. Телетаева, С.А. Проценко, И.А. Балдуева // *Материалы VI Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2020»*. Санкт-Петербург, АННОМО «Вопросы онкологии», – 2020. – С.129.

13. Авдонкина, Н.А. Прогностическая роль клоногенного потенциала *in vitro* метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком / Н.А. Авдонкина, А.Б. Данилова, Т.Л. Нехаева, Н.В. Емельянова, Н.П. Пипиа, А.Ю. Зозуля, Е.А. Просекина, Г.И. Гафтон, И.А. Балдуева // Материалы VI Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2020». Санкт-Петербург, АННМО «Вопросы онкологии», – 2020. – С.132.
14. Prosekina, E.A. 3D-models creation based on solid tumor cell lines for assessment of antitumor treatment / E.A. Prosekina, N.A. Avdonkina, A.B. Danilova, T.L. Nekhaeva, I.A. Baldueva // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020): The Twelfth International Multiconference (06–10 July 2020, Novosibirsk, Russia); Abstracts / Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Novosibirsk State University. – Novosibirsk: ICG SB RAS. – 2020. – P.509–510. ISBN 978-5-91291-051-7. doi:10.18699/BGRS/SB-2020-311
15. Prosekina, E.A. Clinical and immunological characteristics of patients sarcomas with different clonogenic potential / E.A. Prosekina, T.L. Nekhaeva, I.A. Baldueva, A.B. Danilova, N.V. Emelyanova, N.A. Avdonkina // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020): The Twelfth International Multiconference (06–10 July 2020, Novosibirsk, Russia); Abstracts / Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Novosibirsk State University. – Novosibirsk: ICG SB RAS. – 2020. – P.511. ISBN 978-5-91291-051-7. doi:10.18699/BGRS/SB-2020-242
16. Нехаева, Т.Л. Биобанки и создание систематизированных коллекций биологического материала для фундаментальных и прикладных исследований / Т.Л. Нехаева, А.Б. Данилова, Н.А. Авдонкина, Е.А. Просекина, М.Л. Блохина, Н.В. Емельянова, И.А. Балдуева // Сборник тезисов международной научной конференции «Инновационные исследования в биологии и медицине». Сочи, ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», – 2020. – С.87–88.
17. Просекина, Е.А. Трехмерное клеточное моделирование в индивидуализации лечения агрессивных форм злокачественных новообразований / Е.А. Просекина, А.Б. Данилова, Т.Л. Нехаева, Н.А. Авдонкина, Н.П. Пипиа, М.Л. Блохина, Н.В. Емельянова, И.А. Балдуева // Сборник тезисов международной научной конференции «Инновационные исследования в биологии и медицине». Сочи, ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», – 2020. – С.103–104.
18. Балдуева, И.А. Первичная опухоль и её метастазы: взаимоотношение с иммунной системой / И.А. Балдуева, Т.Л. Нехаева, А.Б. Данилова, А.Ю. Зозуля, Н.А. Ефремова, А.В. Новик, А.М. Беляев // Тезисы VII Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2021». Санкт-Петербург, АННМО «Вопросы онкологии», – 2021. – С.121.
19. Данилова, А.Б. Роль пространственной организации клеточных моделей в анализе секреторной активности клеток солидных опухолей / А.Б. Данилова, Н.А. Ефремова, Т.Л. Нехаева, М.Л. Блохина, Д.В. Гирдюк, И.А. Балдуева // Тезисы VII Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2021». Санкт-Петербург, АННМО «Вопросы онкологии», – 2021. – С.124.

20. Патент «Клеточная линия остеогенной саркомы человека 793 OsSar RVV» на изобретение № 2722867 от 04.06.2020. Бюллетень № 2722867, 04.06.2020.
21. Патент «Клеточная линия эмбриональной рабдомиосаркомы человека 862 RMSar KDD» на изобретение № 2737248 от 26.11.2020. Бюллетень № 2737248, 26.11.2020.
22. Патент «Клеточная линия синовиальной саркомы человека 716 SS MNV» на изобретение № 2740800 от 21.01.2021. Бюллетень № 2740800, 21.01.2021).

Представленные соискателем сведения об опубликованных им работах достоверны, отражают в полном объеме результаты диссертационного исследования, соответствуют требованиям к публикации основных научных результатов диссертации, соответствуют требованиям Положения ВАК о порядке присуждения ученых степеней.

Заключение

Диссертация «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии» Ефремовой Натальи Александровны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Заключение принято на заседании научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. И.И. Петрова» Минздрава России.

Присутствовало на заседании 25 чел.

Результаты голосования: «за» - 25 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет.

Протокол № 16 от «08» декабря 2021 г.

Заведующий научным
отделением радиационной
онкологии и ядерной
медицины ФГБУ «НМИЦ
онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, д.м.н.



С.Н. Новиков