**Ефремова Наталья Александровна**

**дата защиты 20. 12. 2022г.**

Тема диссертации: «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии», на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям; 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, 3.2.7. – аллергология и иммунология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек – 20 по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, 3 по специальности 3.2.7. – аллергология и иммунология, в заседании из 31 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 23, против - нет, недействительных бюллетеней – нет





ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.033.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. ПЕТРОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК ЕФРЕМОВОЙ НАТАЛЬИ АЛЕКСАНДРОВНЫ

аттестационное дело №\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 20.12.2022 № 37

О присуждении Ефремовой Наталье Александровне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии» по специальностям: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Аллергология и иммунология, принята к защите 18.10.2022, протокол № 28 диссертационным советом 21.1.033.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68. Приказ №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Ефремова Наталья Александровна, дата рождения 13.03.1975, в 2001 году с отличием окончила «Российский государственный медицинский университет», по специальности «педиатрия». В 2015 году получила диплом о профессиональной переподготовке по специальности «Аллергология и иммунология» в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский Университет Дружбы Народов». В 2017 году окончила клиническую интернатуру по специальности «онкология» 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. С 2019 года занимается преподавательской деятельностью по профилю иммунология в частном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Академия медицинского образования им. Ф.И. Иноземцева».

Справка об обучении (сдаче кандидатских экзаменов по онкологии, философии, английскому языку) №561 выдана 21.01.2021 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) № 28/20 выдана в 21.08.2020 федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Институт экспериментальной медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Научные руководители:

– Балдуева Ирина Александровна, доктор медицинских наук, заведующий научным отделом онкоиммунологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

– Гафтон Георгий Иванович, доктор медицинских наук, заведующий научным отделением общей онкологии и урологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

– Кушлинский Николай Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва);

– Козлов Владимир Александрович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск).

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организацияфедеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург), в своем положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, профессором, профессором кафедры онкологии Тришкиным Владиславом Андреевичем и доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, заведующим кафедрой иммунологи Тотоляном Арегом Артемовичем указала, что диссертационная работа Натальи Александровны Ефремовой «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии» представляет собой самостоятельное законченное научно-квалификационное исследование, выполненное по актуальной проблеме современной онкологии и иммунологии. Результаты, полученные автором, имеют большое значение для науки и практики, их достоверность и обоснованность не вызывают сомнений.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объему и уровню проведенного исследования диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», от 24.09.2013, №842 (с изменениями от 11.09.2021 №1539) утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени, а её автор Ефремова Наталья Александровна заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Соискатель имеет 68 публикаций, в том числе по теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них 4 в рецензируемых научных изданиях (ВАК), 2 статьи в международных журналах 2 квартиля, индексируемых в Web of Science и Scopus. Получено 3 патента на изобретение РФ: №2722867 от 04.06.2020 «Клеточная линия остеогенной саркомы человека 793 OsSar RVV», бюл. №16, №2737248 от 26.11.2020 «Клеточная линия эмбриональной рабдомиосаркомы человека 862 RMSar KDD», бюл. №33, № 2740800 от 21.01.2021 «Клеточная линия синовиальной саркомы человека 716 SS MNV», бюл. №3 и одно свидетельство о регистрации базы данных. Подготовлено одно учебное пособие для обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования.

Основные 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. Авторский вклад 85%. *Обзор литературы, освещающий современные представления об клональной эволюции в опухоли и актуальных эволюционных моделях применительно к саркомам мягких тканей и остеогенным саркомам.*
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. Авторский вклад 90%. *В публикации представлены результаты работы по созданию коллекции новых охарактеризованных клеточных линий сарком мягких тканей и остеогенных сарком, пригодных для трансляционных исследований. Изучена пролиферативная, инвазивная и миграционная активность полученных клеточных линий в монослое и сфероидах, проведены HLA типирование, оценка экспрессии генов высокоиммуногенных раково-тестикулярных антигенов и маркеров стволовых клеток CD133 и ALDH1.*
3. 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. Авторский вклад 80%. *В работе представлены результаты клонирования опухолевых культур сарком, показана связь клоногенности культивируемых клеток сарком с увеличением их пролиферативной активности, усилением химиорезистентности, увеличением числа ALDH1+клеток, проведен кластерный анализ транскрипционной активности генов высокоиммуногенных раково-тестикулярных антигенов в культурах сарком и их клонах. Показано влияние клоногенности на прогноз течения сарком.*
4. 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. Авторский вклад 85%. *В работе определена связь клоногенности и иммунологических параметров периферической крови (цитотоксических Т-лимфоцитов, активированных цитотоксических Т-лимфоцитов, активированных Т-лимфоцитов хелперов, NK-клеток) у пациентов с саркомами. Установлены значимые различия общей выживаемости пациентов с клоногенными и неклоногенными клеточными линиями сарком среди пациентов, получавших иммунотерапию вакциной «CaTeVac».*
5. Ефремова Н.А. Иммунологические аспекты метрономных 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. Авторский вклад 85%. *В работе проведена оценка иммунологической эффективности метрономной химиотерапии* *в сочетании с иммунотерапией аутологичной дендритно-клеточной вакциной CaTeVac у больных саркомами мягких тканей.*
6. 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. Авторский вклад 75%. *В работе проведен сравнительный анализ пролиферации, миграции и инвазии культивируемых клеток солидных опухолей, показана связь указанных параметров с экспрессией генов высокоиммуногенных раково-тестикулярных антигенов.*

Материалов или отдельных результатов, используемых в диссертации без ссылок на авторов и (или) источников заимствования, нет. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На автореферат поступило 4 отзыва от:

– доктора медицинских наук Гладышева Дмитрия Владимировича, заместителя главного врача по хирургии Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 40 Курортного района»;

– доктора медицинских наук, профессора Балмасовой Ирины Петровны, руководителя лаборатории патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

– доктора медицинских наук Любченко Людмилы Николаевны, заведующей отделом молекулярной генетики и клеточных технологий федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

– кандидата биологических наук Ильницкой Аллы Станиславовны, научного сотрудника лаборатории механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Все отзывы положительные, не содержат замечаний и вопросов.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются ведущими специалистами по теме диссертационного исследования и дали свое согласие, а ведущей организации – тем, что она является ведущей научной организацией в области онкологии, аллергологии и иммунологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

– **создана** коллекция из 56 охарактеризованных клеточных линий метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком;

– **выявлено** 2 типа клеточных линий сарком мягких тканей и остеогенных сарком: клоногенные (39,3%; 22/56) и неклоногенные (60,7%; 34/56);

– **обнаружено**, что в процессе селекции появляются значимые различия биологических свойств клеток СМТ и ОС: пролиферативной, миграционной способности, химиорезистентности, относительного содержания ALDH1+клеток, транскрипционной активности генов высокоиммуногенных раково-тестикулярных антигенов *GAGE1*, *SLLP1* (p<0,05);

– **установлен** наиболее часто встречающийся высокоиммуногенный гаплотип HLA-А\*02 (75,9%) и А\*32 (18,5%) в клетках СМТ и ОС по сравнению с общей популяцией (p<0,05);

– **установлены** значимые различия общей выживаемости пациентов с клоногенными и неклоногенными клеточными линиями СМТ и ОС как в общей группе (медиана ОВ составила 9 и 27,3 мес., соответственно, p=0,008), так и среди пациентов, получавших иммунотерапию вакциной «CaTeVac» (6,4 и 28,3 мес., соответственно, p=0,046);

– **обнаружены** различия динамики иммунологических показателей периферической крови пациентов с СМТ/ОС в зависимости от клоногенности опухолевых клеток. В группе больных с клоногенными клеточными линиями отмечено низкое содержание цитотоксических Т-лимфоцитов, активированных цитотоксических Т-лимфоцитов CD3+CD8+HLA-DR+, активированных Т-лимфоцитов хелперов CD3+CD4+HLA-DR+, высокий уровень NK-клеток CD3-CD16+СD56+, p<0,05).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– созданная коллекция клеточных линий сарком их клонов может быть использована для моделирования процессов, происходящих в опухолях, с высокой внутриопухолевой гетерогенностью и в качестве моделей резистентности для разработки новых способов лечения сарком;

– выявленная высокая транскрипционная активность генов высокоиммуногенных РТА в метастатических саркомах позволяет рассматривать их в качестве перспективных кандидатов для проведения иммунотерапии, направленной на эти антигены, и может служить теоретическим обоснованием применения «CaTeVac» у этой категории пациентов;

– изменения иммунологических показателей периферической крови (низкое содержание Т-лимфоцитов, активированных цитотоксических Т-лимфоцитов, активированных Т-лимфоцитов хелперов и высокое содержание NK-клеток) у пациентов, опухолевые клетки которых клоногенны in vitro, могут объяснять низкую эффективность иммунотерапии «CaTeVac» у данной категории больных.

Значение полученных результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

– получение клеточных культур сарком из операционных образцов пациентов и оценка их клоногенности могут быть использованы для выявления неблагоприятных факторов прогноза заболевания;

– клоногенность, определенная in vitro, может рассматриваться в качестве предиктивного маркера эффективности иммунотерапии вакциной «CaTeVac».

Полученные соискателем результаты исследования внедрены и используются в научно-исследовательской и практической работе научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (акт внедрения от 30.11.2021).

Достоверность результатов работы подтверждается репрезентативностью выборки (в исследование скринировано 95 образцов опухоли пациентов, включено 56 клеточных линий и 83 клона), использованием современных методов исследований и различных подходов статистического анализа данных. Все полученные выводы и положения, выносимые на защиту, являются обоснованными и логично вытекают из материалов проведенного научного исследования, а также адекватны поставленным задачам в диссертационной работе.

Личный вклад автора заключается в разработке дизайна исследования, участии в скрининге пациентов, обследовании и лечении больных, создании и заполнении базы данных, получении опухолевых клеточных линий. Соискатель самостоятельно выполняла пассирование, клонирование, оценку пролиферативной, инвазивной и миграционной активности опухолевых клеток, постановку и анализ МТТ-теста, отбор образцов для проведения генетических исследований, проточной цитометрии. Автором изучена литература по тематике исследования (16 отечественных и 166 зарубежных работ), проведена статистическая обработка и анализ результатов, на основании чего сформулированы заключение, выводы и практические рекомендации по материалам исследования. Все полученные результаты самостоятельно подготовлены для публикаций и представления на различных научно-практических мероприятиях.

На заседании 20.12.2022 диссертационный совет пришел к выводу, что в диссертационной работе Ефремовой Натальи Александровны на тему «Изучение селекции опухолевых клеток метастатических сарком мягких тканей и остеогенных сарком для прогноза течения заболевания и эффективности терапии» по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Аллергология и иммунология, решена важная актуальная научная задача фундаментальной и клинической онкологии и иммунологии – поиск новых биомаркеров прогноза течения заболевания и эффективности терапии у больных метастатическими саркомами мягких тканей и остеогенными саркомами на основе изучения особенностей селекции опухолевых клеток ex vivo. Полученные автором результаты открывают перспективы дальнейшего изучения клоногенных сарком как модели эволюционных процессов в гетерогенной опухолевой популяции для поиска новых прогностических и предиктивных маркеров и терапевтических мишеней. В практическом плане полученные результаты могут быть использованы для выявления неблагоприятных факторов прогноза заболевания, стратификации пациентов для иммунотерапии вакциной «CaTeVac» и персонализации противоопухолевого лечения на основе анализа клоногенности и связанных с этой характеристикой иммунологических показателей. Диссертационный совет принял решение присудить Ефремовой Наталье Александровне ученую степень кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Аллергология и иммунология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве – 23 человек, из них докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия – 20, по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология – 3, участвовавших в заседании из 31 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология, проголосовали: за – 23, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН Беляев Алексей Михайлович

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук Филатова Лариса Валентиновна

20.12.2022