

## О Т З Ы В

Бойчука С.В., официального оппонента, члена-корреспондента Академии наук Республики Татарстан, д.м.н., профессора на диссертационную работу Абакумовой Татьяны Владимировны на тему: «**Характеристика циркулирующих нейтрофилов во взаимосвязи с цитокинами при прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы**», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3) – патологическая физиология

**Актуальность избранной темы.** Актуальность данного исследования не вызывает сомнения и обусловлена неуклонной тенденцией роста злокачественных заболеваний. Обоснована роль иммунной системы в формировании и прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы. Большой интерес представляют нейтрофилы (Нф), как клетки врожденной и адаптивной иммунной системы, а также их разнообразие и пластичность в патологическом процессе рака. Лучшее понимание роли Нф позволит открыть новые механизмы канцерогенеза и откроет новые возможности для иммунотерапии путем нацеливания на Нф.

На основании вышеизложенного, диссертационная работа Абакумовой Татьяны Владимировны является актуальной с научной и практической точки зрения. В рассматриваемой работе для оценки морфо-функционального состояния Нф при прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы предложены достаточные и адекватные методы исследования. Полученные данные позволили смодулировать взаимодействие циркулирующих нейтрофилов с цитокинами при онкогинекологической патологии.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации** определяется теоретической базой, представленной трудами отечественных и зарубежных ученых, достоверностью собранного материала и адекватностью его статистического анализа. Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном числе наблюдений, полноте литературного обзора, использовании современных методов исследования и статистической обработки полученных результатов исследования с применением программ STATISTICA 13 и Jamovi 1.6.5.0. Для достижения цели и решения поставленных задач в работе использованы клинико-лабораторные, иммунологические и статистические методы исследования, а также методы флуоресцентный, атомно-силовой микроскопии.

**Научная новизна.** Получены новые данные о взаимосвязи концентраций уровня циркулирующих цитокинов, хемокинов, протеиназ с морфо-

функциональными характеристиками нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников, на ранних (I-II) и распространенных (III и IV) стадиях рака яичников, при дисплазии и при начальном (Ia), местноограниченном (Ib-IIa), распространенном (IIb-IV) стадиях рака шейки матки, при миоме матки и при местном (I) и распространенном (II-III) раке тела матки.

Современный метод атомно-силовой микроскопии позволил проанализировать особенности ригидности мембраны и топологии нейтрофилов при предраковом состоянии и прогрессировании злокачественных опухолей органов женской репродуктивной системы. Полученные результаты позволяют дополнить и расширить представления о способности нейтрофилов периферической крови формировать внеклеточные ловушки (NET), их киллинговую активность, ассоциацию NETs с активностью ядерного фактора (NF- $\kappa$ B) и нейтрофилокинами при прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы. Продемонстрировано изменение уровня внутриклеточно синтезируемых нейтрофилами цитокинов, хемокинов, протеиназ, выявлены корреляционные связи концентрации медиаторов с васкулоэндотелиальным фактором роста (VEGF) при доброкачественных опухолях яичников и на всех стадиях рака яичников, при дисплазии и на разных стадиях рака шейки матки, при миоме и при раке тела матки. Разработана гипотеза взаимосвязи синтезируемых нейтрофилами цитокинов, хемокинов, протеиназ, ангиогенных факторов и активности NF- $\kappa$ B в гранулоцитах.

Впервые с использованием метода бинарной логистической регрессии показана возможность дифференцировать рак яичников от доброкачественных опухолей яичников, рак шейки матки от дисплазии шейки матки, рак тела матки от миомы на основании показателей концентрации циркулирующих в крови цитокинов (IL-1 $\beta$ , G-CSF, IL-17A, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-1RA, IL-6, MCP-1) и активности миелопероксидазы, активных форм кислорода, IFN $\gamma$ , IL-8, NE, MCP-1 и индекса ловушек нейтрофилов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** В работе представлена гипотеза об участии циркулирующих цитокинов в формировании проопухолевого фенотипа нейтрофилов при раке яичников, шейки и тела матки, а также при доброкачественных опухолях яичников, цервикальной интраэпителиальной неоплазии и миоме матки. Полученные данные позволяют сформулировать портрет нейтрофилов крови при предраковых и доброкачественных опухолях женской репродуктивной системы. Полученные результаты могут быть использованы при изучении механизмов канцерогенеза в

фундаментальной онкологии, в образовательном процессе курсов патофизиологии, клинической и фундаментальной онкологии, при разработке схем диагностики и лечения прогрессирующего рака яичников, шейки и тела матки.

**Публикации.** Абакумовой Т.В. опубликованы по теме диссертации 54 научные работы, из них 25 – в изданиях, рецензированных ВАК, 17 – в цитируемых международных реферативных базах данных Scopus и Web of Science, 3 – монографии, получено 2 патента.

**Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора.** Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном числе наблюдений, полноте литературного обзора, использовании современных методов статистической обработки материалов исследования с применением программ STATISTICA 13 и Jamovi 1.6.5.0., глубоком и аргументированном анализе полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях различного уровня.

Планирование научной работы, постановка цели и задач проводились совместно с научными консультантами – Татьяной Петровной Генинг, д.б.н., профессором. Часть исследований выполнена совместно с сотрудниками лаборатории зондовой и электронной микроскопии научно-исследовательского технологического института им. С.П. Капицы ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г.Ульяновск). Подбор тематических больных производился при участии д.м.н., доцента, профессора кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова УлГУ Антонеевой И.И. Выбор методов исследования, научно-информационный поиск, анализ и обобщение данных отечественной и зарубежной научной литературы, анализ и интерпретация полученных данных, статистическая обработка, написание и оформление рукописи, внедрение результатов диссертационной работы в научно-исследовательскую деятельность и учебный процесс выполнены лично автором.

**Характеристика работы.** Диссертация изложена на 231 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, включающего 375 источников, из которых 339 - иностранные. Работа иллюстрирована 45 рисунками, 38 таблицами.

Во «Введении» автор приводит актуальность и обоснование выбора темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту. В обзоре литературы подробно освещаются данные о морфо-функциональном состоянии нейтрофилов в норме и при неопластических процессах,

дается характеристика доброкачественных и злокачественных новообразований органов женской репродуктивной системы. В главе «Материалы и методы» представлены современные методы оценки морфо-функционального состояния нейтрофилов, цитокиновый профиль пациентов при доброкачественных и злокачественных опухолях женской репродуктивной системы. В работе использованы иммуноферментные наборы отечественного и зарубежного производства. В целом, автор использовал достаточный набор современных методов, обеспечивших надежность полученных результатов. Автор использовал современный набор методов, позволивший обеспечить надежность и достоверность представленных в диссертационном исследовании данных. Результаты исследований адекватно обработаны математически с использованием современных статистических программ.

Результаты собственных исследований, раскрытые в 3, 4, 5 главах посвящены оценке количественного и морфо-функционального состояния нейтрофилов при доброкачественных опухолях и на разных стадиях рака яичников, дисплазии и прогрессировании рака шейки матки, миоме и прогрессировании рака тела матки, соответственно. Структура каждой главы включает результаты оценки нейтрофильно-лимфоцитарного отношения, ригидности мембраны, экспрессии дифференцировочных антигенов, показателей кислород-зависимого киллинга, внеклеточных ловушек циркулирующих нейтрофилов, а также уровня циркулирующих цитокинов и нейтрофилокинов. В каждой главе представлены маркеры дифференциальной диагностики злокачественных опухолей женской репродуктивной системы. Каждая подглава результатов собственных исследований завершается кратким заключением. Глава 5 отражает результаты применения регрессионного анализа взаимосвязи цитокинов и циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников, в прогрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии, при миоме и раке тела матки.

Результаты исследований обобщены и кратко обсуждены в главе «Заключение». Основные результаты исследования представлены в виде схем, отражающие механизм формирования фенотипа циркулирующих нейтрофилов при взаимодействии с цитокинами на различных стадиях опухолевого роста. Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и непосредственно вытекают из собственных данных автора.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты исследования нашли применение в научно-исследовательской деятельности иммунологического отдела Научно-исследовательского медико-биологического центра ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» для использования в качестве референсных значений уровня цитокинов в сыворотке крови и лизате нейтрофилов пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями женской репродуктивной системы, а в учебном процессе кафедр: 1) онкологии и лучевой диагностики, 2) последипломного образования и семейной медицины, 3) физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» при изучении раздела о неспецифическом иммунитете. Значение полученных результатов исследования для практики также подтверждено разработанными способами дифференциальной диагностики рака шейки матки (Патент РФ №2488823 от 27.07.2013), уточнения стадии распространенного рака шейки матки (Патент РФ №2582979, 06.04.2016).

**По ходу рассмотрения работы возник ряд вопросов и замечаний.** В качестве замечаний хотелось бы отметить незначительные стилистические неточности и грамматические ошибки, не умаляющие ценности диссертационного исследования.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы, носящие в целом дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. Насколько корректным был использованный Вами метод лизиса нейтрофилов путем их многократного замораживания и их последующего культивирования при 37С? Почему не использовалась общепринятая методика лизиса клеток и клеточных культур с применением традиционных лизирующих буферов, содержащих соответствующие ингибиторы фосфатаз и протеаз? Насколько полноценным был лизис нейтрофилов в контроле и исследуемых группах пациентов (особенно учитывая выявленный Вами факт повышения ригидности клеточных мембран нейтрофилов у пациентов с раком яичника на IV стадии заболевания)?

2. Почему для оценки состояния рецепторного аппарата нейтрофилов не использовали метод проточной цитометрии, позволяющей оценить гораздо большее количество событий по сравнению с тем количеством, которое было представлено в диссертационном исследовании?

3. Какое значение, на Ваш взгляд, имеет повышение количеств нейтрофилов, экспрессирующих Fas-рецептор у пациентов на конечной стадии РЯ? Данный

показатель находится в обратной зависимости от общего количества лейкоцитов, поэтому не может свидетельствовать о потенциальной возможности усиления апоптоза данных клеток.

4. Какое патогенетическое значение имеет усиление ригидности мембраны нейтрофилов при прогрессировании рака яичников и имеется ли функциональная зависимость между изменением данного параметра и активности данных гранулоцитов?

5. Как Вы объясните разнонаправленные значения нетоза нейтрофилов у пациентов на различных стадиях рака яичника?

В целом же, указанные замечания и вопросы не влияют на позитивную оценку диссертационной работы.

**Заключение.** Диссертационная работа Абакумовой Татьяны Владимировны «Характеристика циркулирующих нейтрофилов во взаимосвязи с цитокинами при прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3) – патологическая физиология – представляет собой законченную самостоятельно выполненную, квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной проблемы, значимой для специальности патологическая физиология – участие цитокинов в патофизиологических механизмах изменения характеристики нейтрофилов периферической крови пациентов с онкогинекологической патологией.

Работа по своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям согласно раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335) и может быть представлена к защите по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, биологические науки. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент,  
Заведующий кафедрой общей патологии  
ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский  
университет» Минздрава России,  
д.м.н., профессор, член-корреспондент  
Академии наук Республики Татарстан



С.В. Бойчук

Подпись д.м.н., профессора С.В. Бойчука заверяю:  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор

И.Г. Мустафин



«1» июня 2022 года

Бойчук Сергей Васильевич, член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан, д.м.н., профессор, Заведующий кафедрой общей патологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России. Адрес: г. Казань, 420012, ул. Бутлерова, д.49. Телефон: +7 (843) 236-06-52. email: rector@kazanpmu.ru

Отзыв официального оппонента Бойчука С.В. поступил "07" июня 2022 г.  
Ученый секретарь Дис. совета Д 004.027.02,  
д.м.н., проф., ЗДН РФ

И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента Бойчука С.В. ознакомлена "07" июня 2022 года  
Соискатель

Т.В. Абакумова