

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

руководителя лаборатории физиологии протективной системы «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», доктора медицинских наук Повещенко Александра Федоровича на диссертационную работу Доржиевой Аяны Баяровны «Ксеногенные тестикулярные антигены в индукции противоопухолевых иммунных реакций», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Доржиевой А.Б. посвящена изучению параметров специфических клеточных реакций в ответ на иммунизацию мышей ксеногенными тестикулярными антигенами. Исследование проводилось на модели мышей-опухоленосителей карциномы LLC и меланомы В16 в режиме терапевтической и профилактической схем иммунизации.

В разделе введение автор указывает, что онкологические заболевания являются социально-значимой патологией, которая приводит к значимому проценту инвалидизации и смертности во всем мире, что вызывает необходимость поиска новых методов лечения.

Разработка новых эффективных методов лечения, обладающих селективным противоопухолевым действием, является актуальной научной и практической задачей. Присутствие опухоле-ассоциированных антигенов на мембране клеток яичка представляет интерес для исследований в контексте их использования для стимуляции противоопухолевых реакций организма. Использование тестикулярных антигенов в иммунотерапии онкозаболеваний является новой стратегией лечения, которая требует дальнейшего изучения и расширения применения. Многообещающей альтернативой является использование ксеногенных тестикулярных антигенов, где ксеногенность позволяет увеличить иммуногенность и создать противоопухолевую защиту. В связи с этим, актуальность темы исследования Доржиевой Аяны Баяровны не вызывает сомнений.

Соответствие темы диссертации указанной специальности

Тема диссертационной работы полностью соответствует специальности 3.2.7. Иммунология. Диссертация соответствует направлениям исследования,

описанным в паспорте специальности: №3. Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты; №6. Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов

Работа представляет собой завершённое исследование. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации не вызывает сомнений. Исследования проведены в полном соответствии с поставленными целью и задачами диссертации. Положения, выносимые на защиту, подтверждены результатами и соответствуют выводам.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на российских и международных конференциях. Опубликовано 5 работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования Российской Федерации для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы

В соответствии с целью и задачами, автором были получены результаты, определяющие научную новизну и практическую значимость представленной диссертационной работы. Впервые было показано, что применение ксеногенного тестикулярного полиантигенного материала при терапевтической и профилактической иммунизации увеличивает продолжительность жизни экспериментальных животных-опухоленосителей карциномы LLC и меланомы B16. При профилактической иммунизации именно ксеногенными тестикулярными антигенами фиксируется высокая иммуностимулирующая противоопухолевая активность при сравнении с группой контроля (без иммунизации) и группой мышей, подвергшихся сингенному варианту иммунизации тестикулярными антигенами. Содержание перфорин-содержащих CD8-лимфоцитов у мышей-опухоленосителей LLC при профилактической иммунизации ксеногенными тестикулярными антигенами увеличивается, а уровень T-reg клеток снижается. Впервые продемонстрировано увеличение содержания IFN γ и снижение содержания IL-10 при профилактической иммунизации у мышей-опухоленосителей LLC. Впервые показана возможность использования ксеногенных тестикулярных антигенов при профилактической иммунизации

у мышей-опухоленосителей LLC. Показана активация цитотоксичного Т-клеточного звена при профилактической ксеногенной иммунизации тестикулярными антигенами. Полученные данные расширяют представления о противоопухолевом иммунитете, а использование ксеногенных тестикулярных антигенов для профилактики и лечения рака является важным и перспективным подходом в онкологии, имеющим как теоретическую, так и практическую значимость.

Общая оценка диссертации

Диссертационная работа имеет традиционную структуру, изложена на 120 страницах и включает главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов исследования», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы». Работа иллюстрирована 18 рисунками и 6 таблицами. «Список литературы» включает 147 литературных источников.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования тем, что разработка новых эффективных методов лечения, обладающих селективным противоопухолевым действием, является актуальной научной и практической задачей. Присутствие опухоли-ассоциированных антигенов на мембране клеток яичка представляет интерес для исследований в контексте их использования для стимуляции противоопухолевых реакций организма. Использование тестикулярных антигенов в иммунотерапии онкозаболеваний является новой стратегией лечения, которая требует дальнейшего изучения и расширения применения. Актуальность темы исследования не вызывает сомнений.

Далее следуют формулировки цели и задач работы, которые соответствуют теме диссертации. А именно целью данной работы является исследование параметров иммунитета у мышей - опухоленосителей при иммунизации ксеногенными тестикулярными антигенами в различных экспериментальных условиях. Для достижения поставленной цели были сформулированы 5 задач, которые должны способствовать достижению цели работы:

1. Исследовать выживаемость мышей-опухоленосителей карциномы LLC и меланомы B16 в терапевтическом и профилактическом вариантах иммунизации мышей ксеногенными ТАГ.

2. Определить уровень пролиферативного ответа спленцитов, полученных от мышей-опухоленосителей, иммунизированных *in vivo* ксеногенными и сингенными ТАГ, на опухоль-ассоциированные антигены LLC и B16 в системе *in vitro*.

3. Определить уровень IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей, подвергшихся различным экспериментальным воздействиям.

4. Оценить содержание CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клеток, CD8+Perforin+ Т-клеток и CD4+CD44+62L+ Т-клеток памяти в селезенке мышей, иммунизированных ксеногенными тестикулярными антигенами, подвергшихся различным экспериментальным воздействиям.

5. Исследовать длительность противоопухолевых иммунных реакций при иммунизации мышей ксеногенными тестикулярными антигенами и возможность пассивной передачи противоопухолевого клеточного иммунитета от иммунизированных мышей интактным.

Задачи сформулированы четко, однако, в описании актуальности, на мой взгляд, необходимо было бы сделать хотя бы небольшое, краткое обоснование выбранным для исследования параметров иммунитета. А иначе возникают вопросы, например: почему из множества цитокинов, играющих важную роль в противоопухолевом иммунитете, были выбраны именно IFN γ и IL-10.

Далее по тексту диссертации автор оценивает научную новизну и теоретическую и практическую значимость результатов, описывает методологию и методы исследования, формулирует 2 положения, выносимые на защиту, описывает степень достоверности и апробацию материалов диссертации, публикации и личный вклад автора.

Обзор литературы состоит из 5 подглав: 1 подглава содержит современные представления о противоопухолевом иммунитете, 2 подглава описывает понятия о микроопухолевом микроокружении, 3 подглава описывает понятие об опухоли-ассоциированных антигенах, 4 подглава – данные о методах терапии онкозаболеваний, основанных на применении различных методов противоопухолевой вакцинации, 5 подглава – о роли ксенногенности и изучении их противоопухолевой эффективности. В целом обзор написан хорошо, с использованием как фундаментальных, классических исследований, так и достаточно новых. Отсутствует подглава обзора литературы о роли цитокинов в онкогенезе и противоопухолевом иммунитете, хотя в задачах исследования и соответственно в результатах диссертации исследован уровень IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей.

Глава «Материалы и методы исследования» представлена подробно, с описанием получения полиантигенного тестикулярного ксеногенного материала, представлены современные методы для анализа исследуемых факторов и клеточных популяций.

В главе «Результаты собственных исследований» автор представляет полученные данные исследования. Начинается описание результатов с

оценки пролиферации спленоцитов на тестикулярные антигены *in vitro*. Продемонстрировано, что иммунизация мышей ТАГ барана приводит к формированию в организме животного популяции лимфоцитов, перекрестным образом реагирующих на опухолевые АГ, полученные из В16 и LLC. Далее автор проводит оценку продолжительности жизни мышей-опухоленосителей LLC и В16 при различных типах иммунизации. Исследует концентрации IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей, подвергшихся профилактическому варианту иммунизации ТАГ мышей с последующим введением клеток меланомы В16 и карциномы LLC. Далее представлены результаты изучения иммунологических механизмов при иммунизации мышей ТАГ. Исследовано содержание CD8+perforin+ Т-клеток в спленоцитах мышей-опухоленосителей LLC при профилактической иммунизации ТАГ и мышей-опухоленосителей LLC. А также содержание Т-регуляторных клеток и Т-клеток памяти в спленоцитах мышей-носителей опухоли LLC при профилактической иммунизации ТАГ. Затем автор представляет данные о противоопухолевой профилактической иммунизации ксеногенными ТАГ и возможности пассивного переноса иммунитета интактным реципиентам. Глава «Результаты собственных исследований» хорошо проиллюстрирована схемами экспериментов, а также графиками и таблицами. Автор проводит сравнительный анализ среди групп исследования и контроля, формулирует заключения.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автор анализирует полученные результаты и сравнивает с данными других исследований. Главу «Обсуждение результатов исследования» следует отметить, как наиболее интересную. В этой главе автор демонстрирует свой научный кругозор и умение анализировать как собственные результаты, так и данные литературы.

«Заключение» представляет собой краткое изложение основных результатов, полученных в работе. Основываясь на изложенных в работе подходах иммунизации, автор полагает, что возможно усилить эффективность протективных иммунных реакций в организме опухоленосителя и, таким образом, увеличить продолжительность его жизни.

Выводы сформулированы четко и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с существующими требованиями, а его содержание в целом соответствует материалам, представленным в диссертации, и содержит основные результаты, необходимые для признания обоснованности выводов.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний к работе нет. Оценивая работу положительно и отмечая целый ряд ее достоинств, есть несколько вопросов дискуссионного характера.

1. В разделе введение отсутствует описание обоснований задач исследования. В связи с этим возникает вопрос: почему были исследованы именно эти параметры противоопухолевого иммунитета?

2. Отсутствует подглава обзора литературы о роли цитокинов в онкогенезе и противоопухолевом иммунитете, хотя в задачах исследования и соответственно в результатах диссертации исследован уровень IFN γ и IL-10 в плазме крови мышей. И соответственно возникает вопрос. Почему исследовали именно цитокины IFN γ и IL-10?

3. На рисунке 7, на котором представлена концентрация IFN-gamma и IL-10 в сыворотке крови мышей, подвергшихся в профилактическому варианту вакцинации тестикулярной вакциной с последующим введением клеток меланомы B16 и карциномы LLC, показано, что сингенный вариант вакцинации мышей с LLC сопровождался достоверным снижением концентрации IFN γ и IL-10 ниже значений, зафиксированных у мышей-опухоленосителей без вакцинации. Почему?

4. Из результатов следует, что при анализе выживаемости мышей-опухоленосителей LLC было выявлено достоверно значимое увеличение продолжительности жизни мышей-опухоленосителей, подвергшихся ксеногенной иммунизации ТАГ в группах «1 мес» и «6 мес» (50%ная выживаемость составляла 35 и 39 дней соответственно), по сравнению с группой опухолевого контроля (рисунок 16). А в группе животных, иммунизированных в течение 3 месяцев, 50% -ная выживаемость составляла 13 дней. Почему?

Заключение

Диссертационная работа Доржиевой Аяны Баяровны «Ксеногенные тестикулярные антигены в индукции противоопухолевых иммунных реакций», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне и представляющей интерес для решения задач современной иммунологии в области иммунотерапии опухолевых заболеваний. Диссертация содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для защиты, и выводы, которые свидетельствуют о личном вкладе автора в выполненную работу. Диссертация Доржиевой А.Б. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении учёных

степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в действующей редакции №1382 от 16 октября 2024 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, руководитель лаборатории физиологии протективной системы «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Повещенко Александр Федорович

Подпись доктора медицинских наук, Повещенко Александра Федоровича заверяю:

Ученый секретарь, кандидат биологических наук «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Соловьева Анастасия Олеговна



Дата

08.08.2025