

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора биологических наук Самойлович Марины Платоновны

на диссертацию Даниловой Анны Борисовны на тему:

«ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ «УКЛОНЕНИЯ» ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ОТ ИММУННОГО НАДЗОРА В КОНТЕКСТЕ РАЗРАБОТКИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ АКТИВНОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ»,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по научным специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Иммунология

Актуальность темы диссертационного исследования

Использование для лечения онкологических заболеваний иммунотерапии в разных ее вариантах показало свою эффективность применительно к опухолям разной локализации и гистогенеза. При этом обозначились проблемные ситуации, основная из которых состоит в том, что иммунотерапия в значительном числе случаев, особенно в отношении солидных новообразований, не дает положительного результата. Причины неэффективности иммунотерапии в составе адьювантной или в виде монотерапии могут быть разнообразными. Для их выявления и преодоления необходимо четкое знание механизмов первичной резистентности опухолевых клеток к иммунотерапии, процессов естественной и индуцированной терапией эволюции опухолей, роли микроокружения опухоли в формировании невосприимчивости к иммунотерапии. Рецензируемая работа Даниловой А.Б., посвященная исследованию закономерностей эволюции опухолей и механизмов формирования их иммунорезистентности в приложении к созданию противоопухолевых вакцин, обладает безусловной актуальностью.

Научная новизна исследования

Диссертационная работа Даниловой А.Б. содержит несколько основных тематических разделов, каждый из которых описывает новые факты и закономерности. Первый из них посвящен ответу на вопрос, какие изменения фенотипа опухолевых клеток происходят при длительном культивировании *in vitro* и в процессе развития опухоли в организме. На основе проведенных аналитических исследований был сделан важный вывод о том, что опухоли разного гистогенеза в процессе длительного культивирования претерпевают сходные изменения антигенного профиля. Изучена экспрессия раково-ассоциированных антигенов опухолевыми клетками разного гистогенеза, ее изменения в процессе культивирования.

В результате исследования впервые выполнено описание целого спектра секретируемых опухолевыми клетками биомолекул, действующих на разные сигнальные клеточные механизмы и вызывающих феномен локальной или системной

иммуносупрессии. Эти вызывающие иммуносупрессию факторы способны отменять эффективность вакцинотерапии. Впервые было выполнено сопоставление анализа выживаемости пациентов, получавших вакцинотерапию в разных схемах, с уровнем секреции их опухолевыми клетками иммуносупрессорных молекул. Было показано, что негативное действие иммуносупрессивных факторов на эффективность иммунотерапии не зависит от типа применяемой вакцины. Была подчеркнута необходимость жесткого отбора пациентов для клеточной иммунотерапии с учетом биологической характеристики опухолей.

Одним из важнейших результатов исследования явился вывод о сходстве профилей экспрессии ряда раково-тестикулярных генов в солидных опухолях разного гистогенеза. Анализ экспрессии генов, таких как *PRAME*, *PASDI*, *SSX1*, а также ряда ростовых факторов и молекул адгезии (HB-EGF, PLGF, PECAM-1, SCF, FST, IL-8) опухолевыми клетками в модельных системах 2D и 3D культур привел автора к заключению, что перечисленные биомолекулы следует рассматривать как новые потенциальные универсальные мишени для создания средств терапии метастатической болезни.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результатом выполненной Даниловой А.Б. диссертационной работы явилось получение и характеристика обширной коллекции новых клеточных линий из первичных опухолей разного гистогенеза, из рецидивов опухолей и из метастатических очагов. Эта коллекция представляет ценный фонд клеточных моделей, которые предназначены для изучения клеток опухолей, их взаимоотношений с компонентами микроокружения, для создания и скрининга средств терапии новообразований.

На основе изучения широкого спектра секретируемых опухолевыми клетками молекул автором сделан выбор тех факторов иммуносупрессии, которые целесообразно оценивать до начала иммунотерапии с целью прогнозирования ее эффективности.

Принципиально важным для практического использования явилась разработка на основе полученных Даниловой А.Б. результатов, антигенного препарата IRTAN-2018, предназначенного для нагрузки дендритных клеток и создания таким образом вакцин для иммунотерапии солидных опухолей.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов, рекомендаций

Диссертационная работа Даниловой А.Б. четко спланирована, выполнение всех экспериментов аргументировано. Исследования выполнены на обширном материале с использованием современных методов, приборов и реагентной базы. Автором была

проведена эксплантация 826 образцов ткани опухолей разного гистогенеза, в результате создана коллекция из 575 охарактеризованных культур, из которых 110 переведены в клеточные линии. Результаты получены с использованием методов эксплантации и длительного культивирования клеток опухолей разного гистогенеза, способов 2D и 3D культивирования, фенотипирования, прижизненных функциональных тестов, вариантов иммуноферментного анализа, гистологических и иммуногистохимических методов, а также полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Все количественные показатели, полученные в процессе исследования, статистически грамотно обработаны в полном соответствии с задачами и с особенностями экспериментальных данных. Представленные результаты подвергнуты критическому анализу и на их основе автором сделаны обоснованные выводы. Полученные в ходе исследования результаты изложены в 75 напечатанных работах, а также защищены 13 патентами. Материалы диссертации полностью отражены в автореферате, который соответствует требованиям ВАК РФ.

Объем и структура диссертации, оценка ее завершенности в целом

Диссертационная работа А. Б. Даниловой представляет собой объемный труд, изложенный на 368 листах. Диссертация по структуре соответствует классическим канонам и содержит обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и перспективы, а также список литературы.

Обзор литературы содержит анализ современных представлений об антигенной эволюции солидных опухолей, о локальных и системных факторах иммуносупрессии, сопровождающих развитие заболевания, об основных стратегиях иммунотерапии опухолей. Обзор завершается Заключением, в котором суммированы основные нерешенные проблемы, автором сделан акцент на том, что блокада одного из механизмов реализации опухоль-индуцированной иммуносупрессии не эффективна, необходим поиск разных молекулярных мишеней и комбинированных воздействий.

Сведения об источниках получения материала для исследования информативны и содержат все необходимые данные. Работа выполнена с использованием широкого арсенала современных методов исследования, позволяющих решить поставленные задачи. Методы, использованные при проведении исследования, описаны подробно, четко и хорошо иллюстрированы.

Изложение результатов собственных исследований объединено с их обсуждением, что представляется целесообразным в данной работе, поскольку позволяет автору избежать необходимости повторений и актуализировать оценку собственных данных.

Наивысшей оценки заслуживает форма представления материала. При описании изменений антигенного профиля клеток опухолей в процессе длительного культивирования, при определении факторов иммуносупрессии, и др. автор приводит таблицы с указанием средних значений для опухолей каждого гистогенеза, минимальные и максимальные значения, а также гистограммы, отражающие тенденции изменений и точечные графики, в которых представлены значения для индивидуальных образцов. Данные морфологических, иммуногистохимических и иммуноцитохимических исследований проиллюстрированы качественными информативными фотографиями.

Диссертация Даниловой А.Б. представляет собой завершённый научный труд, в котором решены все поставленные задачи и даны рекомендации по использованию результатов исследования.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Данилова А.Б. в диссертационной работе по результатам исследования приводит три практические рекомендации, касающиеся разных аспектов выполненного исследования. Не вызывает сомнения, что созданная и охарактеризованная автором коллекция клеточных линий опухолевых клеток разного гистогенеза может служить источником клеточных моделей как для углубленного изучения биологии индивидуальных опухолей, имеющих общее гистогенетическое происхождение, так и для разработки и апробации эффективности различных по природе средств противоопухолевой терапии. Рекомендация по использованию клеточного продукта IRTAN-2018 для антигенной нагрузки дендритных клеток в рамках вакцинотерапии опухолей обоснована совокупностью результатов исследования экспрессии доминирующих раково-тестикулярных антигенов в опухолях разного гистогенеза и на протяжении эволюции индивидуальных опухолей. Важнейший вектор выполненной работы определялся выявлением механизмов, определяющих случаи неэффективности вакцинотерапии опухолей на основе применения нагруженных опухолеассоциированными антигенами дендритных клеток. Рекомендация оценки уровня иммуносупрессирующих факторов, секретируемых опухолевыми клетками, как предиктивный показатель эффективности вакцинотерапии, является обоснованной. Таким образом, все рекомендации, приведенные Даниловой А.Б. по результатам выполненного исследования, являются обоснованными и значимыми для практики.

Вопросы и замечания

Рецензируемая работа настолько хорошо спланирована, выполнена, изложена и проиллюстрирована, что фактически я не имею к ней замечаний.

В качестве вопроса для дискуссии интересно узнать представление автора о практическом алгоритме оценки секретируемых опухолями от индивидуальных пациентов иммуносупрессорных факторов и прогнозирования эффективности для них иммунотерапии. Что можно понимать под индивидуальными клеточными моделями и насколько в практическом отношении выполнима такая задача?

Насколько необходимо использовать 3D модели культивирования для предиктивной оценки эффективности вакцинотерапии?

Одним из исследованных автором факторов иммуносупрессии являются растворимые молекулы МІСА. Известно, что стрессорные молекулы МІСА и МІСВ обладают высоким аллотипическим полиморфизмом. Появляются указания на то, что имеется корреляция определенных аллотипов этих молекул с заболеваниями, в том числе и опухолями разного гистогенеза. Позволяют ли имеющиеся методы количественной оценки секретируемых клетками МІСА выявлять эти молекулы вне зависимости от аллотипической принадлежности?

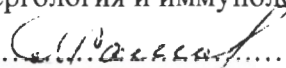
Заключение

Диссертация Даниловой Анны Борисовны на тему: «ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ «УКЛОНЕНИЯ» ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ОТ ИММУННОГО НАДЗОРА В КОНТЕКСТЕ РАЗРАБОТКИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ АКТИВНОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ» представляет самостоятельный завершённый концептуальный научный труд, в котором содержится решение актуальной научной проблемы, направленной на повышение эффективности вакцинной иммунотерапии солидных опухолей на основе выявления новых закономерностей эволюции опухолей, механизмов избегания ими противоопухолевого иммунитета, экспериментального обоснования создания и применения нового клеточного продукта IRTAN-2018 и определения критериев, позволяющих прогнозировать успешность вакцинотерапии.

Содержание и название диссертации Даниловой А.Б. полностью соответствуют паспортам специальностей 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 3.2.7. Иммунология. По масштабу решаемых в работе задач, по научной новизне и практической значимости диссертационное исследование Даниловой А.Б. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 (в редакции от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 11.09.2021 г. №1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415), утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора

биологических наук. Автор Данилова Анна Борисовна достойна присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 3.2.7. Иммунология.

17.10.2023

Главный научный сотрудник, руководитель
лаборатории гибридной технологии
д.б.н., специальность 14.00.36 – аллергология и иммунология
Самойлович Марина Платоновна.....

Подпись руки Самойлович М.П. заверяю, ученый секретарь ФГБУ «РНЦРХТ им. академика
А.М. Гранова» Минздрава России
д.м.н. Бланк О. А.....

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр
радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
197758, Санкт-Петербург, п/о Песочный, ул. Ленинградская, 70,
тел. (812) 596-66-53;
E-mail : info@rrcrst.ru
<http://www.rrcrst.ru>