«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной работе ФГБОУ ВО
«Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
академик РАН, д.м.н., профессор
_____ Ю. С. Полушин
«___» _____ 2019 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Абакушиной Елены Вячеславовны на тему: «Лиганды рецептора NKG2D в комплексной оценке иммунитета у онкологических больных и разработка метода адоптивной иммунотерапии», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Абакушиной Е.В. посвящена актуальной проблеме, касающейся улучшения результатов диагностики и лечения онкологических больных с использованием иммунологических подходов. Хорошо известно, что злокачественные новообразования находятся на втором месте среди причин смертности не только в России, но в большинстве стран мира. Выявление онкологических заболеваний на поздних стадиях и низкая эффективность традиционных методов лечения являются причиной снижения общей выживаемости больных. В связи с этим возникает необходимость в поиске и разработке современных методов диагностики и терапии онкологических заболеваний. Неоспоримо влияние как самой

опухоли на иммунную систему, так и клеток иммунной системы на злокачественное новообразование. За последние несколько лет были достигнуты существенные успехи, обусловленные поиском новых мишеней и созданием препаратов для таргетной иммунотерапии. Кроме того, в последнее время в клиническую практику входят новые терапевтические антитела, ингибиторы контрольных точек и препараты на основе CAR-T-лимфоцитов.

Чрезвычайно актуальным является проведение исследований, направленных на изучение механизмов противоопухолевого иммунного ответа с целью выявления причин его несостоятельности, и разработка способов его коррекции. Поиск высокоспецифичных методов иммунодиагностики и иммунотерапии, базирующихся на естественных механизмах распознавания и удаления чужеродного агента, без повреждения здоровых тканей организма, привел к разработке методов адоптивной клеточной иммунотерапии, основанной на введении в организм больного активированных *in vitro* аутологичных клеток иммунной системы. Весьма привлекательным в этом отношении является подход с использованием клеток врожденного иммунитета, а именно NK-клеток, играющих первостепенную роль в противоопухолевом иммунном ответе.

В диссертационной работе подробно исследованы свойства NK-клеток, оценено их количество у онкологических больных различных нозологических групп и их функциональная роль после активации *in vitro*. Все это является важными фундаментальными аспектами для разработки современного метода адоптивной иммунотерапии, который и был предложен в диссертационной работе и внедрен в клиническую практику, что, несомненно, является актуальным.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Абакушиной Е.В. являлась фрагментом темы НИР «Изучение противоопухолевого иммунного ответа, процессов

активации и ингибирования NK(T)-клеток при взаимодействии с поверхностной и растворимой формой опухоле-ассоциированной молекулы MICA, как нового маркера злокачественного роста» в рамках госзадания МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в 2007-2009 гг. (№ гос. регистрации 01200501319); подтемой №7 «Изучение опухоле-ассоциированных молекул MICA/B в качестве маркёров для диагностики и биотерапии онкологических заболеваний» на 2011-2013 гг. и НИР на тему: «Разработка методов иммунотерапии, позволяющих повысить эффективность лечения онкологических больных» на 2012-2016 гг. в рамках государственного задания «Изучение механизмов физической, химической и биологической модификации радиационных эффектов» (№ гос. регистрации 01201262734). По заявленной теме выполнена совместная работа по гранту РФФИ № 08-04-01772-а «Распознавание опухолевых клеток и регуляция цитолитической активности натуральных киллеров. Роль стресс-индуцируемой молекулы MICA» 2008-2010 гг. и государственному контракту № 16.740.11.0200 «Механизмы и регуляция экспрессии белка MICA, лиганда активирующего рецептора цитотоксических лимфоцитов человека, в норме и при опухолеобразовании» в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России». Выполнена работа по гранту РФФИ № 16-04-01867 «Роль аллельных групп белка MICA, лиганда рецептора NKG2D, в регуляции противоопухолевой активности клеточного иммунитета» на 2016-18 гг., а также проводятся НИР по аспектам развития биомедицинской науки до 2025 года в платформе «Онкология» и «Регенеративная медицина» (приказ МЗ РФ от 30 апреля 2013 г. № 281 «Об утверждении научных платформ медицинской науки»).

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна исследования не вызывает сомнения. В результате работы получены новые знания о роли стресс-индуцированных молекул MICA, которые появляются в сыворотке крови в высоких концентрациях при опухолеобразовании. Данные молекулы являются одним из прогностических

факторов развития онкологического процесса и могут быть полезны как при диагностике заболевания, так и при мониторинге развития новообразования.

В работе разработаны критерии комплексной оценки нарушений иммунитета, описаны характеристики проявления иммуносупрессии у онкологических больных. Разработан оригинальный метод активации цитотоксических лимфоцитов *in vitro*, который защищен патентом РФ на изобретение. Впервые разработан алгоритм персонифицированной адоптивной иммунотерапии с использованием активированных *in vitro* цитотоксических лимфоцитов для пациентов, получающих специфическую противоопухолевую терапию. Данный способ лечения онкологических больных также защищен патентом РФ на изобретение.

В результате диссертационной работы сформирован новый подход к исследованию, который предусматривает определение исходного функционального состояния иммунной системы у больных со злокачественными новообразованиями и его мониторинг в динамике лечения для последующей оценки необходимости коррекции на этапах комплексного лечения с включением адоптивной иммунотерапии.

Разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное достижение в развитии перспективного направления в клинической онкоиммунологии.

Значимость для науки и практической деятельности, полученных авторам результатов

Проведённые Абакушиной Е.В. исследования существенно расширяют имеющиеся представления об особенностях функционирования иммунной системы у онкологических больных, а также о механизме ускользании опухоли от надзора иммунной системы. На основании этого и анализе циркулирующего пула иммунорегуляторных молекул MICA в крови онкологических больных, которые ингибируют активацию лимфоцитарного цитотоксического звена иммунитета, автором подобраны критерии включения больных для проведения иммунотерапевтических воздействий. На основании полученных данных и оценке фенотипа лимфоцитов

периферической крови расширена панель маркеров для проведения проточной цитометрии и выявления нарушений в иммунном статусе у онкологических больных. К стандартной панели добавлены маркеры ранней и поздней активации лимфоцитов (CD25, CD38, CD69, HLA-DR, NKG2D), субпопуляции Treg и маркер апоптоза CD95. Выявлены значимые молекулы, которые играют существенную роль в ускользании опухоли от иммунного надзора и являются прогностическими и мониторинговыми для оценки влияния клеточной иммунотерапии на исход основного заболевания.

В работе были получены новые сведения об участии лигандов рецептора NKG2D в развитии новообразования и на этапах противоопухолевого лечения онкологических больных. Сформулированы основные положения, связанные с внедрением в клинику адоптивной иммунотерапии на основе активированных лимфоцитов и оценкой их клинической эффективности у пациентов онкологического профиля.

В экспериментальной части работы был получен рекомбинантный белок MICA и показано, что растворимые формы молекул MICA взаимодействуют с рецептором NKG2D на лимфоцитах, что приводит к снижению их эффекторной функции и ускользанию опухоли от иммунного распознавания, что может негативно сказываться на эффективности адоптивный иммунотерапии. Однако было показано, что длительное лечение больных с проведением адоптивной иммунотерапии приводит к нормализации показателей иммунитета, может увеличить экспрессию NKG2D рецептора и снизить долю Treg. Т.е. позволяет уменьшить степень иммуносупрессии у больных раком, что в конечном итоге позитивно сказывается на развитии заболевания и приводит к стабилизации процесса у большей части пациентов, объективному улучшению качества их жизни за счёт значимого снижению показателей статуса состояния больных, оцененных по шкале ECOG.

В результате работы по выявлению взаимосвязи между количеством молекул MICA в сыворотке крови и активностью NK-клеток при различных опухолях, разработаны новые подходы к иммунодиагностике и разработке

прогностических критериев течения онкологического заболевания. Также в работе определены методологические подходы и рекомендации по проведению адоптивной иммунотерапии и иммунореабилитации онкологических больных, что является актуальным и социально значимым аспектом диссертационного исследования.

Разработанные практические рекомендации в данной работе могут быть использованы для улучшения диагностики и в непосредственной клинической практике онкологических и научных учреждений здравоохранения.

Личный вклад автора

Автору принадлежит основная роль в выборе направления исследования. Личный вклад автора состоял в выборе темы исследования, определении задач и обосновании методов их решения, а также анализе теоретических данных, проведении экспериментов и интерпретации полученных данных. Автором лично проведена статистическая обработка обобщенного материала, сделаны научные выводы и изложены практические рекомендации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов, приведённых в диссертации

Результаты диссертационного исследования можно рекомендовать к использованию в работе научных, лечебных и учебных учреждений, занимающихся исследованиями в области онкоиммунологии и лечением онкологических больных. Также материалы работы могут использоваться в учебно-методической работе со студентами ВУЗов и при преподавании ряда дисциплин смежных с иммунологией и онкологией, а также в постдипломном образовании на курсах повышения квалификации врачей КЛД, иммунологов-аллергологов и онкологов.

Публикации

Основное содержание диссертационного исследования достаточно полно отражено в 103 научных публикациях соискателя, в том числе 27 статей опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, в том числе 17 оригинальных работ, 8 обзоров, 2 статьи в иностранных журналах. Получены два патента на изобретение, опубликована новая медицинская технология.

Объем и структура диссертации

Диссертация написана в соответствии с общепринятыми стандартами, состоит из 6 глав и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, изложенные в четырех главах, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список использованных источников. Диссертация написана на 297 страницах машинописного текста. В целом результаты работы изложены подробно с достаточным количеством иллюстративного материала. Работа содержит 33 таблицы и 61 рисунок. Заключение, выводы и практические рекомендации логично вытекают из результатов собственных исследований и полностью соответствуют поставленным задачам. Список цитируемой литературы состоит из 399 источников, из которых 91 отечественная работа и 308 зарубежных.

В автореферате сформулированы актуальность и основная цель работы, описаны методы анализа, обоснованы достоверность, научная новизна и практическая значимость полученных результатов, приведены научные положения, выносимые на защиту, и информация об апробации результатов исследования, описаны структура и объём диссертации, краткое содержание работы по главам, результаты и выводы диссертационной работы. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Диссертация Абакушиной Е.В. полностью соответствует паспорту специальностей 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Замечаний принципиального характера по оформлению, содержанию и полученным результатам нет.

В ходе изучения материалов диссертации возникли некоторые вопросы дискуссионного характера:

1. Для изучения показателей иммунитета и проведения адоптивной иммунотерапии автор выбрал две основные группы больных с колоректальным раком и меланомой. С чем связан такой выбор?
2. Важные данные были получены в экспериментальной части работы. Автором было показано, что рекомбинантный белок человека MICA взаимодействует с рецептором NKG2D на NK-клетках, что было подтверждено с помощью метода проточной цитометрии. Однако интересно было бы узнать, каким именно образом происходит это взаимодействие?

Данные вопросы могут послужить предметом для дискуссии или дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Абакушиной Е.В. на тему: «Лиганды рецептора NKG2D в комплексной оценке иммунитета у онкологических больных и разработка метода адоптивной иммунотерапии» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований, дано теоретическое обоснование нарушений в иммунной системе у онкологических больных и предложен способ адоптивной иммунотерапии, что является решением важной научной проблемы в области как теоретической иммунологии, так и практического здравоохранения.

По своей актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности выводов представленная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями от 01.10.2018 г. № 1168) утвержденными Постановлением Правительства Российской Федерации предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Абакушина Е.В. достойна присуждения искомой степени по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры иммунологии и кафедры онкологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол № 20 от 28 января 2019 года.

Заведующий кафедрой иммунологии
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад.
И.П. Павлова Минздрава России
академик РАН, д.м.н., профессор А. А. Тотолян

Заведующий кафедрой онкологии,
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад.
И.П. Павлова Минздрава России
доктор медицинских наук В.В. Семиглазов

Подпись руки заверяю: Тотолян
Спец. по кадрам Тимофеева М.А.
«29» 01 2019 г.

Подпись руки заверяю: Семиглазов В.В.
Спец. по кадрам Тимофеева М.А.
«29» 01 2019 г.

Российской Федерации, 197022 г. Санкт-Петербург ул. Льва Толстого д.6-8
Тел.: +7 (812) 338-67-99, e-mail: rector@1spbgmu.ru, http://www.1spbgmu.ru/