

ОТЗЫВ

**официального оппонента,
кандидата биологических наук (03.02.02 – «Вирусология»)**

Шварца Антона Марковича

**о диссертации Балдина Алексея Викторовича на тему «Раково-сетчаточные антигены в контексте диагностических и иммунотерапевтических подходов в онкологии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.01.03 – «Молекулярная биология»**

Актуальность темы исследования

В последние годы неизменно растет интерес к иммунологическим методам ранней диагностики и лечения онкологических заболеваний. Это обусловлено способностью иммунной системы реагировать даже на небольшие новообразования, и участвовать в прицельном уничтожении опухолевых клеток по всему организму. Кроме того, накапливается большое количество данных о взаимодействии опухоли и иммунной системы и о новых онкомаркерах. Полученные данные можно использовать для разработки новых методов диагностики и лечения и их трансляции в клиническую практику. Обнаружение новых групп опухолевых антигенов, наряду с разработкой новых иммуномодулирующих препаратов, повышает интерес к разработке и применению противоопухолевых вакцин. Все это дает основание считать тему диссертационной работы Балдина А.В. актуальной.

Научная новизна исследования и результатов, полученных и сформулированных в диссертации

В рамках диссертационной работы Балдиным А.В. впервые получены данные об экспрессии раково-сетчаточного антигена аррестина-1 в опухолях при почечно-клеточной карциноме, а также было показано наличие аутоантител к аррестину-1 у пациентов с почечно-клеточной карциномой. В данной работе было показано, что экспрессия аррестина-1 в клетках почечно-клеточной карциномы приводит к снижению пятилетней выживаемости больных до 70%. В данной работе указывается, что аутоантитела к аррестину-1 могут представлять собой перспективный маркер процесса развития опухолей в почках.

В работе Балдина А.В. предложено использование раково-сетчаточных антигенов для активации противоопухолевого специфического иммунитета с помощью вакцин. В качестве противоопухолевой вакцины были сконструированы гибридные белки на основе белка теплового шока HSPA1B и эпитопов другого раково-сетчаточного белка рековерина. В работе было показано, что такие гибридные конструкции способны индуцировать активацию и созревание дендритных клеток, имеющих провоспалительный фенотип.

Содержание диссертации и ее завершенность

Диссертация построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, описание использованных материалов и методов, результаты работы, их обсуждение, выводы и список цитируемой литературы (308 источников). Работа изложена на 118 страницах, содержит 14 таблиц и 25 рисунков.

Представленный обзор литературы тесно связан с темой исследования. Он охватывает большой массив литературных данных, содержит сведения о противоопухолевом

иммунитете, опухолеассоциированных антигенах о современных методах иммунотерапии онкологических заболеваний.

В разделе «Материалы и методы» содержится весьма детальное описание использованных диссертантом в экспериментальной работе методик. Хотелось бы отметить, что спектр методов, примененных в данной работе, достаточно широк – от классических генно-инженерных подходов, до проточной цитометрии и дифференцировки первичных клеток крови человека и работе с первичными клетками.

В разделах «Результаты» и «Обсуждение результатов» было показано, что белок аррестин-1 обнаруживается в образцах различных типов опухолей почек, но не в образцах здоровых почек. Экспрессия данного антигена выше в метастазах по сравнению с первичными опухолями. Также было показано, что высокая экспрессия аррестина-1 связана со снижением пятилетней выживаемости пациентов до 70%. Также было показано, что экспрессия аррестина-1 в клетках опухоли почек не связана с нарушением метилирования промотора соответствующего гена. Далее автором работы было показано, что в сыворотке пациентов с почечно-клеточной карциномой (ПКК) часто обнаруживаются аутоантитела к аррестину-1, что указывает на возможность использования данных антител для обнаружения опухоли почек. Стоит отметить, что данные аутоантитела обнаруживались не только у пациентов с карциномой почек, но и в сыворотке людей с почечной онкоцитомой. Анализ выживаемости пациентов с различными типами ПКК показал, что, наличие антител к аррестину-1 не ассоциируется со снижением общей выживаемости при ПКК. Также в данной работе проведена попытка разработки иммунотерапевтического препарата на основе раково-сетчаточных антигенов. Для этого были сконструированы плазмиды, кодирующие рекомбинантные слитые белки на основе HSPA1B и различных эпитопов рековерина. Используя данные плазмиды были получены соответствующие варианты химерных белков, представляющих собой прототип противоопухолевой вакцины. Эти белки в сочетании с цитокинами, экзотоксидами и другими иммуностимуляторными молекулами (IL-4, GM-CSF, CD40L, PGE2, IFN γ , TNF- α) добавлялись к первичным дендритным клеткам человека и индуцировали их созревание и формирование провоспалительного фенотипа. Это позволяет предположить возможность использование данного типа вакцин для иммунотерапии опухолей.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Раково-сетчаточные антигены были описаны как белки, в норме локализующиеся в сетчатке глаза, но абберантно экспрессирующиеся в опухолях другого генеза. На данный момент имеются лишь ограниченные данные об экспрессии этих антигенов в различных опухолях. Полученные в рамках работы Балдина А.В. результаты позволяют говорить об экспрессии раково-сетчаточного антигена аррестина-1 в почечно-клеточной карциноме. На основе описанного в литературе материала и собственных данных автор высказывает предположение, что антитела к опухоле-специфичным белкам могут являться перспективным биомаркером для раннего обнаружения опухолей почек.

Показанная в данной работе корреляция экспрессии аррестина-1 по отношению к снижению выживаемости пациентов с почечно-клеточной карциномой и повышенный уровень данного белка в метастазах позволяет сделать предположение что аррестин-1 может играть определённую роль в процессах канцерогенеза, в частности в процессе метастазирования.

Актуальность данной работы не ограничивается интересом к раково-сетчаточным антигенам как маркерам. В данной работе предлагается использование белков из данной группы в качестве эпитопов для противоопухолевых вакцин. На примере другого, раково-

сетчаточного антигена рековерина были сконструированы и проверены на способность активировать дендритные клетки так называемые химерные белки, состоящие из HSPA1B и эпитопов рековерина. Такого типа вакцины потенциально могут применяться для терапевтических целей в онкологии.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Сформулированные в диссертационной работе выводы и положения логично изложены и обоснованы. Результаты основаны на достаточном экспериментальном материале, с достаточным количеством технических и биологических повторностей. Достоверность результатов также обуславливает адекватно произведенная статистическая обработка данных.

Замечания по диссертации

По диссертационной работе у рецензента имеется ряд замечаний:

1. Литературный обзор сделан с сильным уклоном на описание роли в противоопухолевом ответе дендритных клеток и их функционирование, при этом другие аспекты взаимодействия иммунной системы и опухолей освещены более поверхностно и сумбурно. В частности, слабо отражено взаимодействие иммунных клеток с макрофагами. На асимметричность изложения указывает даже название разделов, где описание роли дендритных клеток в противоопухолевом ответе вынесено в отдельную главу, а глав для подробного описание других типов иммунных клеток нет.

2. В литературном обзоре отсутствует описание различных типов опухолей почек, исследуемых в данной работе, что затрудняет интерпретацию результатов

3. В обзоре, при перечислении опухолеассоциированных антигенов, отсутствует упоминание работ, проводимых в нашей лаборатории, результаты которых были опубликованы в международных журналах в 2015-2019 годах.

4. В результатах указан отрицательный результат исследования роли гипометилирования промотора в aberrантной экспрессии аррестина-1. Однако не ясно зачем оно было проведено, ведь сам же автор в начале соответствующей главы указывает, что промотор SAG не содержит CpG островков, что делает регуляцию гена с помощью метилирования маловероятной.

5. Не совсем очевидна практическая значимость данной работы. Как указывает сам автор, аутоантитела к аррестину-1 могут вырабатываться как у пациентов с злокачественной, так и с доброкачественной опухолями почек, а также их уровень слабо связан с прогнозами для больных. Кроме того, использование вакцин с эпитопами раково-сетчаточных антигенов может привести к поражению сетчатки, что может привести более выраженным негативным последствиям, чем текущие методы лечения, такие как химиотерапия или таргетная терапия.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

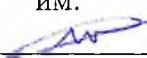
По материалам диссертации опубликовано три статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах Scopus и Web of Science. По результатам диссертационной работы был получен патент на изобретение, автором которого является в т.ч. Балдин А.В. Результаты работы доложены на четырех международных конференциях.

Заключение

Диссертация Балдина А.В. является законченной работой, выполненной на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне и имеющей как фундаментальное значение, так и перспективы практического применения.

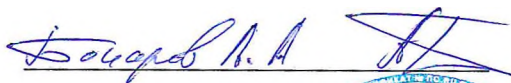
По актуальности, научной новизне и практической значимости, объему и методическому уровню исполнения, работа, имея достойное теоретическое и практическое значение, полностью соответствует требованиям п.16 «Положения о присуждении ученых степеней Университета», утвержденного приказом ректора ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) от 31.01.2020 года № 0094/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Балдин Алексей Викторович, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология».

Официальный оппонент,

кандидат биологических наук (03.02.02 – «Вирусология»), старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

Шварц А.М.

Подпись к.б.н. Шварца А.М. заверяю.

Учёный секретарь ИМБ РАН



21 апреля 2021 года

Адрес: Москва улица Вавилова дом 32 строение 1

Телефон: 89266802982

Email: shvarts@imb.ru

