

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Селедцова Виктора Ивановича на диссертацию Абакушиной Елены Вячеславовны на тему: «Лиганды рецептора NKG2D в комплексной оценке иммунитета у онкологических больных и разработка метода адоптивной иммуно-терапии» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Актуальность темы исследования

Работа посвящена актуальной теме – изучению иммунологических сдвигов у онкологических больных, а также разработке иммунотерапевтического подхода, нацеленного на сдерживание опухолевого роста. Основной акцент в работе сделан на NK клетках, играющих основополагающую роль во врожденных механизмах противоопухолевого клеточного иммунитета. Естественные киллеры могут быть эффективным инструментом в клеточной иммунотерапии. В этом контексте культивирование NK-клеток не только позволяет увеличивать их количества, но также активировать и модифицировать их противоопухолевые свойства.

Связь работы с научными программами и темами НИР

Диссертационная работа являлась фрагментом тем НИР МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России и рамках госзадания (номер государственной регистрации 01200501319 и 01201262734).

Исследования были поддержаны грантами РФФИ и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России». Выполняется НИР по аспектам развития биомедицинской науки до 2025 года в платформе «Онкология» и «Регенеративная медицина».

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Абакушиной Елены Вячеславовны выполнена в соответствии с требованиями ВАК на высоком методологическом уровне. Автором проанализированы клинические данные 339 пациентов. Проведены лабораторные исследования с применением современных методов. Изучена фенотипическая характеристика лимфоцитов периферической крови онкологических больных и уровень синтезируемых ими цитокинов, разработан способ активации лимфоцитов и схема персонифицированной клеточной иммунотерапии. Полученные данные проанализированы с помощью комплекса методов статистической обработки. Все использованные методы современны и актуальны для решения поставленной цели. Выводы четко соответствуют поставленным задачам. Подробная детализация выводов раскрывает суть и последовательность проведенных исследований. Научные положения, выносимые на защиту, должным образом аргументированы и в совокупности подтверждают достижение цели исследования. Формулировка практических рекомендаций не вызывает возражений. Интерпретация полученных данных представляется обоснованной и интересной. В целом, проведенные исследования является завершенным научно квалификационным трудом в рамках поставленной цели и задач.

Очевидно, что автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования и в обосновании цели и задач исследования, а также в поиске методов и способов их решения. Соискателем лично произведен анализ теоретических данных, проведены эксперименты и их интерпретация, статистическая обработка и обобщение полученных результатов.

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на многочисленных симпозиумах и конференциях различного уровня и опубликованы в виде 103 печатных работ, из которых 27 статей в журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ. Получены два патента на изобретение и новая медицинская технология. В автореферате отражено основное содержание диссертационной работы.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность результатов исследования и сформулированных на их основании выводов и положений основывается на достаточном объеме фактического клинического материала. Анализ полученных данных и их математическая обработка проведены на высоком уровне и наглядно представлены. Графики и таблицы в диссертации и автореферате в полной мере отражают количественные характеристики выборок и статистическую обработку данных, при которой автор использовал параметрические и непараметрические критерии, что соответствует современным принципам биомедицинской статистики.

В работе описан целый ряд новых научных фактов. Найдены особенности иммунитета у онкологических больных различных нозологических групп. Показано, что несостоятельность противоопухолевой защиты может быть связана с наличием растворимых форм молекул МІСА в высоких концентрациях. Этот факт может быть прогностическим в плане исхода заболевания и ответа на иммунотерапию.

В зарубежных работах показано, что непрерывное влияние ІІ-15 на НК клетки вызывает их функциональное истощение за счет снижения окисления жирных кислот, что приводит к уменьшению цитотоксичности *in vitro* и снижению действия на опухоль *in vivo*. Таким образом, оптимальное дозирование и время культивирования с ІІ-15 имеет решающее значение для активации НК *ex vivo*. В диссертационной работе достоверно показано, что целесообразно комбинировать различные цитокины для синергичной стимуляции *ex vivo* НК-клеток. Таким образом, автором разработан новый оригинальный способ активации цитотоксических лимфоцитов. Разработанный протокол активации лимфоцитов обеспечивает высокую клеточную жизнеспособность и повышенную эффекторную активность, включая секреторные и цитотоксические функции.

Показано, что активированные лимфоциты, введенные в организм онкологического больного, способствуют изменению распределения субпопуляций лейкоцитов в периферической крови. В данном исследовании были продемонстрированы безопасность и целесообразность использования активированных лимфоцитов в малых концентрациях для проведения адоптивной иммунотерапии.

Выводы и практические рекомендации информативны и отражают суть проделанной работы. Формулировки логичны, доказаны в исследовании на достаточном фактическом материале.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Ценность работы и результаты, полученные автором важны как для фундаментальной, так и для клинической иммунологии, а также для практической онкологии. Междисциплинарный подход работы раскрывает важные механизмы иммуносупрессии, развивающейся у онкологических больных, и описывает пути их преодоления за счет внедрения в клиническую практику адоптивной иммунотерапии.

Результаты диагностических исследований и обнаружение молекул МІСА в сыворотке крови, а также изменения фенотипа лимфоцитов у онкологических больных имеют

большое практическое значение для мониторинга данных показателей у больных раком в процессе лечения. Особенно это актуально при иммунокоррекции состояния онкологических больных и в плане прогноза.

Отдельным аспектом работы является получение рекомбинантного человеческого белка МІСА, который может быть использован в фундаментальных научных разработках, а также при обосновании и для разработки новых иммунотерапевтических подходов.

В целом, положения, вынесенные автором, имеют большое значение, как для фундаментальной науки, так и практического здравоохранения.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Автором обоснована возможность диагностического применения проточной цитометрии с расширенной панелью лимфоцитарных а активационных маркеров. Данную разработку можно использовать для выявления иммунологических нарушений у онкологических больных.

В работе показано, что модуляция рецепторов НК *ex vivo* за счет добавления комбинации цитокинов ИЛ-2 и ИЛ-15 потенциально может помочь в преодолении ингибирования иммунного ответа. Данный факт имеет свое приложение в клинической практике при проведении иммунотерапии активированными лимфоцитами.

Кроме того, можно генетически модифицировать НК клетки *ex vivo* для дальнейшего увеличения их противоопухолевой активности, например, для интеграции рецепторов химерных антигенов против различных опухолевых антигенов.

Важным в работе является получение рекомбинантного человеческого белка МІСА. Перспективным может быть получение анти-МІСА антител, которые могут быть использованы для диагностических и терапевтических целей и создания таргетных онкоиммунологических препаратов.

Содержание диссертации, ее завершенность

Диссертационная работа написана хорошим научным языком и оформлена по требованиям ГОСТ Р 7.0.11. в соответствии с общепринятыми стандартами, состоит из 6 глав и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований с обсуждением, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список цитируемой литературы из 399 источников.

В целом работа логически выверена. Ее условно можно подразделить на 2 этапа. На первом этапе анализируются иммунологические сдвиги, затрагивающие клеточный иммунитет и очерчиваются возможные пути усиления противоопухолевой иммунной защиты. На втором этапе автор разрабатывает во многом оригинальную иммунотерапевтическую технологию и проводит ее первичную клиническую апробацию.

Представленный литературный обзор отличает ясность и четкость изложения – нет размытости и лишней информации, которая могла бы затруднить общее восприятие работы.

Обращают на себя внимание высокий методический уровень и широкий спектр использованных методик. Методы исследования и использованное в работе современное оборудование детально описаны в соответствующей главе, что подтверждает высокий уровень диссертационной работы.

Структура и логика изложения материала выглядит достаточно обоснованной и полностью согласуется в контексте достижения цели исследования и решения поставленных задач.

Основные результаты собственного исследования изложены в четырех главах. В первой отражены диагностические аспекты. Первоначально оценен уровень стресс-индуцированных молекул МІСА у 200 онкобольных в сыворотке крови. Достоверно показаны высокие концентрации данных молекул у определенных групп больных. Среди этих групп автором были выбраны две нозологии с различной иммуногенностью. Определена прогностическая значимость молекул МІСА при анализе исхода заболевания и распространенности процесса. Далее изучен иммунофенотип периферических мононуклеаров крови онкологических больных из этих двух групп с колоректальным раком и меланомой. Выявлены особенности субпопуляционного состава лимфоцитов и маркеров их активации. Отражена взаимосвязь между уровнем МІСА и экспрессией рецептора NKG2D на НК-клетках.

В следующей главе собственных исследований диссертант подробно описывает разработку метода активации лимфоцитов у онкологических больных. В результате данной части работы были подобраны оптимальные концентрации интерлейкинов и показана повышенная противоопухолевая активность лимфоцитов при данном способе культивирования и синергическом использовании ИЛ-2 и ИЛ-15.

В третьей главе результатов исследования автор разрабатывает способ адоптивной иммунотерапии и проводит его апробацию у онкологических больных двух групп различных по иммуногенности. Это подтверждается результатами исследования и более выраженным ответом на терапию у больных меланомой. Хочется отметить обоснованную автором хорошую переносимость клеточной терапии, повышение качества жизни больных (достоверно показано с помощью критериев ECOG), отсутствие выраженных иммуноопосредованных нежелательных явлений у больных, что является неоспоримыми фактами в пользу назначения адоптивной иммунотерапии. Перспективным является сочетание данного вида терапии с другими видами иммунотерапии (ингибиторами контрольных точек и таргетными препаратами).

В последней четвертой главе результатов исследования автор впервые проводит иммуномониторинг молекул МІСА до и во время терапии. Показано, что снижение концентрации МІСА связано с хорошим прогнозом, а увеличение с прогрессированием заболевания. Это важный аспект наблюдения за течением заболевания в совокупности с иммуномониторингом субпопуляционного состава лимфоцитов на этапах терапии.

В главе обсуждение результатов описываются перспективы использования результатов исследования.

В заключении логически представлены практические рекомендации и выводы, которые обоснованы и не вызывают нареканий.

Диссертационная работа является самостоятельным законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Несомненный плюс работы – детальное описание методов, которое дает ответы на многие вопросы, возникающих при ознакомлении с результатами исследований. Трактов-

Трактовка автором полученных результатов в полной мере соответствует современным представлениям и отражает прогресс в онкоиммунологии, сделанный в самое последнее время.

Достоинство диссертационной работы – ее приближенность к практической медицине. На мой взгляд, представленная работа обосновывает возможность использования для адоптивной клеточной терапии донорского (аллогенного) клеточного материала, не скомпрометированного болезнью и ее лечением. Клетки, полученные от молодых доноров (старение иммунной системы – часто ключевой фактор ее противоопухолевой неэффективности), могут стать эффективным иммунологическим инструментом в лечении целого ряда опухолевых заболеваний.

Диссертация соответствует паспорту научных специальностей: 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

Заключение

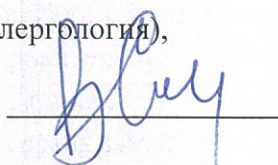
Таким образом, диссертация Абакушиной Елены Вячеславовны на тему: «Лиганды рецептора NKG2D в комплексной оценке иммунитета у онкологических больных и разработка метода адоптивной иммунотерапии» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, а также решена научная проблема, имеющая важное социально-экономическое значение, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор, Абакушина Елена Вячеславовна, заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.01.12 – онкология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник
Центра медицинских биотехнологий
Балтийского федерального университета им. И. Канта

Доктор медицинских наук
(14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология),

профессор



Селедцов В.И.

