

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Трунова Александра Николаевича на диссертацию Куликовой Екатерины Владимировны «Индукция противоопухолевого иммунного ответа *in vitro* дендритными клетками, трансфицированными полиэпитопными ДНК-конструкциями», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология»

### **Актуальность**

Актуальность исследований представленной диссертационной работы определяется рядом положений.

Во-первых, диссертационное исследование посвящено решению одной из значимых фундаментально-прикладных задач в клинической иммунологии, связанных с углубленным изучением роли дендритных клеток в механизмах развития противоопухолевого иммунного ответа. Несмотря на наличие научных публикаций о значимости дендритных клеток в формировании противоопухолевого реагирования, многие аспекты этих процессов остаются до конца не изученными.

Во-вторых, несмотря на достижения современной медицины, злокачественные опухолевые процессы продолжают оставаться сложной медико-социальной проблемой, которая, во многом, определяет структуру инвалидности и смертности в мире. Известно, что результаты использования существующих методов лечения злокачественных новообразований не всегда удовлетворяют практическое здравоохранение, а усилия ученых многих стран направлены на разработку новых высокотехнологичных методов. Анализ научной литературы позволяет сделать заключение, что одним из перспективных направлений в этой области является разработка новых подходов к лечению опухолевых процессов с использованием установленных свойств дендритных клеток. В настоящее время в научной литературе присутствуют данные, свидетельствующие об эффективности использования

клеточных вакцин, разработанных с использованием дендритных клеток, при различных онкологических заболеваниях. Однако, остаются нерешенными ряд вопросов, связанных с низкой иммуногенностью опухолевых антигенов в лизате, их возможные аутоиммунные свойства в случае применения для нагрузки дендритных клеток с целью стимуляции противоопухолевого иммунного ответа и др., что определяет необходимость дальнейших углубленных исследований в этой области.

Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что цель и задачи представленной диссертационной работы, посвященной разработке нового подхода для индукции цитотоксического иммунного ответа *in vitro* с помощью дендритных клеток, являются актуальными и значимыми для науки и практического здравоохранения.

#### **Научная новизна и практическая значимость**

В проведенном исследовании автором получены данные, определяющие научную новизну и практическую значимость диссертационной работы.

Автором диссертации была разработана ДНК-конструкция pCI-UB-POLYER1, кодирующая эпитопы опухоль-ассоциированных антигенов колоректального рака, которая была использована для индукции противоопухолевого иммунного ответа *in vitro*, и установлено, что зрелые дендритные клетки, трансфицированные ДНК-конструкцией pCI-UB-POLYER1, индуцируют способность мононуклеарных клеток лизировать опухолевые клетки-мишени после совместного культивирования. Данный факт подтверждается установленным повышением цитотоксической активности мононуклеарных клеток против аутологичных опухолевых клеток и увеличением количества перфорин-позитивных Т-лимфоцитов в культуре мононуклеарных клеток больных колоректальным раком.

Было показано, что использование для трансфекции дендритных клеток разработанной конструкции способно приводить к индукции цитотоксического ответа в культуре мононуклеарных клеток больных колоректальным раком, и сопоставимо с выраженностью индукции



цитотоксичности дендритными клетками, нагруженными лизатом клеток опухоли.

Автором успешно разработан способ модуляции клеточного иммунного ответа в культуре моноклеарных клеток в эксперименте, что может быть основой для разработки новых патогенетически обоснованных методов лечения злокачественных опухолевых заболеваний, и определяет практическую значимость работы.

### **Достоверность полученных результатов**

Достоверность полученных результатов и выводов основывается на логичности построения и высоком уровне проработки всех этапов диссертационной работы, использовании высокоинформативных методов исследований, тщательном анализе и сопоставлении полученных данных, корректной статистической обработке.

Полученные материалы были обсуждены на всероссийских и международных научных форумах и представлены в печатных работах (12 печатных работ по теме диссертации, в том числе, в достаточном количестве в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов, используемых в диссертационных работах). Приоритет исследования подтвержден патентом РФ.

Материал, представленный в диссертации, получен и проанализирован автором лично.

Все выше изложенное позволяет считать, что представленные автором результаты достоверны, а выводы вполне обоснованы и соответствуют полученным данным.

### **Общая характеристика работы**

Работа написана в классическом стиле, состоит из введения, обзора данных литературы, описания материалов и методов исследования, глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 105 страницах печатного текста, хорошо иллюстрирована таблицами и

рисунками. Список литературы содержит 196 источников, из них 184 зарубежных.

Введение отвечает предъявляемым требованиям, содержит все необходимые разделы: кратко обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, представлено положение, выносимое на защиту.

Аналитический обзор литературы изложен достаточно полно и охватывает современные аспекты изучаемой проблемы. В обзоре представлены точки зрения и суждения различных авторов, грамотно используется современная литература, что свидетельствует об эрудиции автора и его способности к аналитической работе. Знание литературы позволило автору конкретно сформулировать цель и задачи собственного диссертационного исследования. Основная часть обзора литературы посвящена описанию способов доставки различных видов антигенов в дендритные клетки для индукции специфического противоопухолевого иммунного ответа при колоректальном раке, их преимуществ и недостатков.

В главе «методы исследования» автор описывает группы обследуемых лиц, а также представляет методы исследования. Выбор методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования, а детально описанные методики предоставляют возможность воспроизведения экспериментов по приведенному протоколу.

Определив цель диссертационного исследования, в главах результатов собственных исследований автор последовательно описывает полученные в процессе работы данные, проводит их сравнительный анализ и сопоставления, делает обоснованные заключения.

В главе «обсуждение полученных результатов» на хорошем уровне проведен анализ полученных данных, что еще раз подтверждает эрудицию автора.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного диссертационного исследования.



Содержание автореферата соответствует диссертации, отражает основные результаты, необходимые для суждения об обоснованности выводов.

Работа соответствует паспорту специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология» в разделах:

- Фундаментальные исследования, посвященные изучению строения, функционирования иммунной системы и механизмов иммунной защиты.
- Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики аллергических и иммунопатологических процессов.

**Принципиальных замечаний к работе нет.**

**Однако, хотелось бы задать автору исследования ряд вопросов**

1. Изучали ли вы цитотоксическую активность моноклеарных клеток, культивированных с дендритными клетками, трансфицированными полиэпитопными ДНК-конструкциями, против опухолевых клеточных линий?
2. Как вы считаете, какие еще типы иммунокомпетентных клеток могут вносить вклад в прирост перфорин-позитивных клеток в общей популяции лимфоцитов культуры моноклеарных клеток и играть роль в индукции цитотоксического иммунного ответа помимо CD8+ лимфоцитов после совместного культивирования с дендритными клетками, трансфицированными ДНК-конструкцией pCI-UB-POLYEP1?

### **Заключение**

Таким образом, диссертационное исследование Куликовой Екатерины Владимировны «Индукция противоопухолевого иммунного ответа *in vitro* дендритными клетками, трансфицированными полиэпитопными ДНК-конструкциями», выполненное при научном руководстве д. м.н., профессора С.В. Сенникова, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методическом уровне, в которой получен фактический материал и содержится решение важной и актуальной для клинической иммунологии задачи – на основании

проведенных исследований разработана ДНК-конструкция pCI-UV-POLYER1, кодирующая эпитопы опухоль-ассоциированных антигенов колоректального рака, и показано, что зрелые дендритные клетки, трансфицированные разработанной конструкцией, индуцируют способность моноклеарных клеток лизировать опухолевые клетки-мишени. Практическая значимость работы заключается в разработке новых подходов, способных лечь в основу создания патогенетически обоснованных методов лечения злокачественных опухолевых процессов.

Диссертационное исследование по актуальности, методическому уровню, значимости полученных результатов и выводов полностью отвечает требованиям Положения о присуждении ученых степеней (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

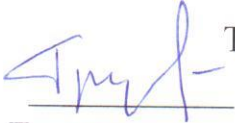
Официальный оппонент,  
доктор медицинских наук, профессор,  
руководитель лаборатории  
иммунологии репродукции  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский институт  
экспериментальной и клинической  
медицины»

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова,  
2,

Тел. (383) 333-64-56

Trunov1963@yandex.ru

<http://centercem.ru/>

 Трунов Александр  
Николаевич  
Диссертация на соискание  
ученой степени доктора  
медицинских наук защищена по  
специальности: 14.03.03 –  
патологическая физиология,  
14.03.09 – аллергология и  
иммунология

