

Отзыв официального оппонента

к.б.н., в.н.с. лаборатории биохимии нуклеиновых кислот

ФГБУН «Института химической биологии и фундаментальной медицины»

Мироновой Надежды Львовны

на диссертацию Хантаковой Юлии Николаевны: «Влияние дендритных клеток, трансфицированными полиэпитопными ДНК-конструкциями, на индукцию цитотоксического ответа культуры моноклеарных клеток больных раком молочной железы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Диссертационная работа Хантаковой Ю.Н. посвящена вопросу перспективности применения дендритных клеток, трансфицированных полиэпитопными ДНК-конструкциями, кодирующими специфичные антигенные детерминанты опухоль-ассоциированных антигенов, для индукции цитотоксического ответа против клеток рака молочной железы.

Клеточная иммунотерапия онкологических заболеваний давно привлекает внимание специалистов в качестве одной из возможных альтернатив современным стандартным методам лечения. Благодаря успехам онкологии и иммунологии с одной стороны, и развитием биотехнологий с другой стороны, стало возможным создание новых клеточных подходов, направленных на развитие противоопухолевого иммунного ответа. Наиболее пригодными для запуска иммунного ответа специалистами рассматриваются именно дендритные клетки. Они считаются основными антиген-презентирующими клетками организма, которые способны захватывать, обрабатывать и представлять различные по происхождению опухолевые антигены и запускать формирование цитотоксического иммунного ответа Т-лимфоцитов.

На сегодняшний день в мире исследуется большое количество различных антигенов для нагрузки дендритных клеток, эффективно запускающих и поддерживающих противоопухолевый иммунный ответ как *in vitro*, так и *in vivo*. В качестве антигенов используют нативные белки, РНК или антигены лизата, полученных из аутологичной опухолевой ткани, а также пептидные и ДНК-конструкции, полученные методами генной инженерии. Использование для нагрузки дендритных клеток ДНК-конструкций, содержащих в своем составе только наиболее иммуногенные антигенные эпитопы значимых опухоль-ассоциированных антигенов, имеет ряд преимуществ и позволяет полностью

исключить развитие аутоиммунных и иммуносупрессивных реакций, которые могут происходить вследствие включения полной последовательности антигена при нагрузке нативными белками из ткани опухоли.

Таким образом, тема диссертационной работы, а также ее цель и задачи являются актуальными. Работа сделана на культурах клеток человека и имеет определенные практические перспективы для иммунотерапии онкологических заболеваний. Работа Хантаковой Ю.Н. концептуально достаточно проста: получены незрелые дендритные клетки из крови условно-здоровых доноров и больных раком молочной железы (РМЖ); для нагрузки дендритных клеток использованы ДНК-конструкции, кодирующие поли-ЦТЛ-эпитопный иммуноген, содержащий HLA-A*02:01-специфичные антигенные детерминанты белка HER2-neu или полноразмерный белок ErbB2, и, в качестве сравнения, опухолевый лизат; в культурах моноклеарных клеток условно-здоровых доноров и больных с РМЖ изучена эффективность цитотоксического иммунного ответа, индуцированного под действием полученных дендритных клеток, в зависимости от гаплотипа и цитокинов ИЛ-12 и ИЛ-18.

Среди основных результатов автором показано: (1) формирование более эффективного цитотоксического ответа моноклеарных клеток против клеточной линии MCF-7, несущей таргетный антиген Her2/neu, при использовании дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкцией, кодирующей отдельные поли-ЦТЛ-эпитопные иммуногены, содержащие антигенные детерминанты белка Her2/neu, по сравнению с дендритными клетками, трансфицированными ДНК-конструкцией, кодирующей полноразмерный белок ErbB2, и опухолевым лизатом; (2) зависимость эффективности индукции цитотоксического ответа моноклеарных клеток под действием дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, от структуры иммуногенов конструкции, HLA-A-гаплотипа больного РМЖ и иммунорегуляторного влияния цитокинов ИЛ-12 и ИЛ-18. Свои исследования автор осуществил с использованием широкого спектра современных научных методов иммунологии, молекулярной биологии, онкологии, использование которых позволило получить достоверные научные данные.

Диссертационная работа изложена на 121 странице машинописного текста. Структура изложенной диссертации традиционна, и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, посвященной собственным исследованиям, обсуждения, заключения, выводов и приложения. Основные главы выдержанны в объеме и пропорциях. Работа содержит 15 рисунков и 1

таблицу. Автор диссертационной работы для обоснования выдвинутых научных положений и выводов использует необходимые аргументы как теоретического, так и практического характера. В литературном обзоре соискатель грамотно и досконально описывает основные клеточные события, связанные с развитием противоопухолевого иммунного ответа, а также дает детальную характеристику основным опухоль-ассоциированным антигенам, экспрессирующихся на клетках рака молочной железы. Представлены сведения из 196 источников, большинство из которых зарубежные публикации (177 источников).

Дизайн исследования обозначен корректно и последовательно, полностью соответствует поставленным задачам. Выбор методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования. Автором детально прописаны все использованные методики, что предоставляет возможность для воспроизведения экспериментов по приведенному протоколу.

Достоверность полученных результатов и выводов основывается на логичности построения и высоком уровне проработки всех этапов диссертационной работы, использовании высокоинформативных методов исследования, тщательном анализе и сопоставлении полученных результатов, их корректной статистической обработке. Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного экспериментального исследования.

Полученные результаты были доложены и обсуждены на всероссийских и международных научных форумах и представлены в печатных работах (16 печатных работ по теме диссертации, в том числе, в достаточном количестве в периодических изданиях, рекомендованных ВАК для публикации материалов, использованных в диссертационных работах). Приоритет исследования подтвержден патентом РФ. Материал, представленный в диссертации, получен и проанализирован автором лично.

Содержание автореферата в полной мере отражает диссертационную работу, содержит все необходимые данные, необходимые для суждения об обоснованности выводов.

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

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.

Принципиальные замечания и вопросы

1. Литературный обзор не содержит иллюстративного материала (ни рисунков, ни таблиц). Для разделов, касающихся описания опухоль-ассоциированных антигенов, в этом нет необходимости, однако, в разделах, описывающих взаимодействие иммунокомпетентных клеток, это добавило бы материалу наглядности. Отсутствует общее название литературного обзора.

2. Раздел *Генотипирование для выявления аллеля HLA-A*02* и рисунок 2, приведенные в *Материалах и Методах*, представляют собой важный результат, и их следовало бы представить в разделе *Результаты*.

3. В разделе *Результаты* не представлены данные цитофлуориметрического анализа маркеров созревания дендритных клеток и эндоцитозной активности дендритных клеток, полученных от условно-здоровых доноров (стр. 54), хотя такие данные представлены для дендритных клеток, полученных от больных РМЖ (стр. 60).

Работа содержит незначительное количество опечаток. Тем не менее, сделанные замечания ни в коей мере не снижают значимость работы и полученных результатов.

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Хантаковой Юлии Николаевны «Влияние дендритных клеток, трансфицированных полиэпигенными ДНК-конструкциями, на индукцию цитотоксического ответа культуры моноклеарных клеток больных раком молочной железы», выполненное при научном руководстве д.м.н., проф. Сенникова С.В., является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методологическом уровне, в которой получен фактический материал и содержится решение важной и актуальной для клинической иммунологии задачи по возможности индукции противоопухолевого иммунного ответа культуры моноклеарных клеток больных раком молочной железы, способных вызывать лизис аутологичных опухолевых клеток при сокультивировании с дендритными клетками, трансфицированными ДНК-конструкциями, кодирующими поли-ЦТЛ-эпитопный иммуноген, содержащий антигенные детерминанты опухоль-ассоциированных антигенов. Практическая

значимость данной диссертационной работы заключается в разработке новых подходов, которые могут стать основой для создания иммунологически обоснованных методов лечения злокачественных опухолевых процессов.

Диссертационное исследование по актуальности, методическому уровню, значимости полученных результатов и выводов полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2014 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ФГБУН «Института химической биологии и фундаментальной медицины», 630090, г.Новосибирск, пр.Лаврентьева,8, тел. 8-(383)-363-51-50 mironova@niboch.nsc.ru

 Миронова Надежда
Львовна

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук защищена по специальности: 02.00.10 – биоорганическая химия

Подпись Мироновой Н.Л. заверяю:

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН,
к.х.н.



Пестряков П.Е.