

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

СУНБУЛИ ХЕТАМ

на тему «**Характеризация опухоль-ассоциированных нейтрофилов и особенности их взаимодействия с опухолевыми клетками**»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология

Актуальность избранной темы

Исследование влияния иммунной системы на опухолевую прогрессию в последние десятилетия продемонстрировало пластичность фенотипов и гетерогенность различных иммунных клеток при патологических состояниях. Помимо макрофагов, такая пластичность присуща и нейтрофилам, которые могут проявлять как проопухолевые, так и противоопухолевые свойства. Изучение природных индукторов фенотипической подвижности, а также влияние разнообразных внешних сигналов на транскрипционный ответ нейтрофилов может создать основы для инновационных иммунотерапевтических подходов. Успехи внедрения в противоопухолевую терапию различных вариантов клеточной иммунотерапии также стимулируют исследования противоопухолевых свойств нейтрофилов.

Именно поэтому изучение опухоль-ассоциированных нейтрофилов, которому посвящена работа Сунбули Хетам, является актуальной задачей.

Структура и общая характеристика диссертационной работы

Диссертация Х. Сунбули построена по стандартной схеме: состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы. Исследование изложено достаточно лаконично - на 144 страницах, включает 21 рисунок, 13 таблиц и 1 приложение. Поскольку работа непосредственно посвящена характеристике нейтрофилов, в обзоре литературы выглядит обоснованным рассмотрение всех известных функций нейтрофилов при онкологии и описание перспективных методов лечения рака на основе нейтрофилов.

Исключительно подробно и аккуратно оформлен раздел Методы. Разнообразие этих методов впечатляет – от выделения нейтрофилов, иммунофенотипирования, оценки экспрессии генов, получения опухолевых моделей и гистологического анализа, до выделения и количественной оценки внеклеточной ДНК. Далее, в разделе Результаты, применение указанных методов полностью соответствует поставленным экспериментальным задачам.

Особый интерес вызвали методы исследования выброса нейтрофилами NET. Очень хорошо проиллюстрировано присутствие в нейтрофилах многодольчатых ядер неправильной формы, что является одной из особенностей этих лейкоцитов. Очень элегантно работа использует результаты предыдущих исследований лаборатории по применению ДНКазы I как противоопухолевого средства, транслируя подход на разрушение нейтрофильных сетей. Очень интересно, что разрушение NET с помощью ДНКазы I может не только препятствовать реализации проопухолевых эффектов нейтрофилов, но и устранять прокоагулянтный и протромботический эффекты NET при опухолевых заболеваниях.

Большие усилия предприняты Сунбули Хетам для описания фенотипической пластичности нейтрофилов, поскольку это важно для разработки подходов направленной коррекции фенотипов нейтрофилов с помощью различных модуляторов у онкобольных. Все это характеризует Сунбули Х. как грамотного исследователя с широким кругом методологических возможностей, реализованными в данной диссертационной работе.

Достоверность и новизна полученных результатов

Достоверность полученных в работе Сунбули Хетам результатов подтверждена результатами статистической обработки данных, в которой были учтены показатели нескольких повторов экспериментов. Стоит отдельно отметить комплексный подход к модельному объекту – проанализированы и незрелые нейтрофилы костного мозга, и зрелые нейтрофилы селезенки мыши. Нетоз выбран авторами исследования как один из ключевых параметров функциональной реализации нейтрофилов и обуславливает новизну полученных результатов. В качестве патологических состояний были выбраны классические модели - носительство опухолей лимфосаркомы RLS40, карциномы легких Льюис и меланомы B16, трансплантация клеток проводилась на сингенных мышей, поэтому достоверность полученных результатов может быть подтверждена и другими исследователями, работающими с подобными моделями. Для одной из указанных опухолевых моделей впервые четко показана взаимосвязь размера опухолевого узла с фенотипом опухолеассоциированных нейтрофилов. Впервые показано, что ДНКазы I вызывает значительную модификацию фенотипа нейтрофилов, что может быть основой для разработки новых схем противоопухолевого применения ДНКазы I в клинике.

Результаты диссертации опубликованы в 3 статьях первого квартиля, также фрагмент обзора литературы опубликован в 2022 г в виде обзорной статьи, и к настоящему моменту обзор процитирован уже 54 раза, что говорит о его качестве и актуальности тематики. Во всех четырех публикациях Сунбули Хетам является первым автором.

Практическая ценность результатов, полученных в работе

В диссертации предложен и апробирован, в сравнении с аналогами, метод выделения нейтрофилов из костного мозга мышей и селезенки с помощью иммуномагнитного осаждения на последнем этапе. Предложенный метод опубликован Сунбули Х. с соавторами, он имеет практическую ценность, поскольку может применяться в исследованиях других ученых, работающих с нейтрофилами.

В работе предложены референсные гены, которые позволяют достоверно оценивать изменения транскриптома именно нейтрофилов мыши. Для стабильной оценки изменений в уровнях экспрессии мРНК в нейтрофилах мыши при разных патологических состояниях, а не только при онкологических новообразованиях, можно будет использовать предложенные нормировочные гены - *Tbp* и *Hprt1*. Таким образом, результаты диссертации имеют высокую практическую значимость.

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

Положения и задачи диссертации четко сформулированы и полностью подкреплены полученными результатами. Выводы работы сделаны на основании полученных результатов и не вызывают сомнения. Автореферат отражает все основные результаты исследования, представленные в диссертации.

Замечания

В результате прочтения работы возникли небольшие замечания, которые имеют дискуссионный или технический характер и не уменьшают значимость исследования:

1. При сравнительном анализе нейтрофилов мыши, выделенных из костного мозга, методы ИНС и ИПС незначительно отличаются по чистоте в пользу ИПС, но выигрывают по показателю выхода нейтрофилов. Для каких задач по вашему мнению метод ИНС может все-таки быть предпочтительным? Почему снижается эффективность метода при применении для выделения нейтрофилов селезенки?
2. На Рис. 20 для визуализации клеток в состоянии нетоза был использован краситель DiOC6, а на Рис. 5 и Рис. 6 в экспериментах дополнительно использованы антитела к миелопероксидазе. Насколько необходима дополнительная визуализация миелопероксидазы для оценки формирования NET нейтрофилами?
3. Какие иммуностимуляторы наиболее подходят для комбинации с ингибиторами нетоза или ДНКазы I в качестве вспомогательной противоопухолевой стратегии, чтобы исключить нежелательную проопухолевую поляризацию нейтрофилов?
4. Использование термина “эндоцитарное происхождение” в отношении белков, которые не синтезируются нейтрофилами, но захватываются в процессе эндоцитоза, не совсем

корректно, поскольку может трактоваться напротив, как белки внутриклеточного происхождения.

Сделанные замечания имеют дискуссионный характер, не умаляют научной ценности полученных данных и сделанных выводов, и не снижают общего очень хорошего впечатления от диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Сунбули Хетам на тему «Характеризация опухолеассоциированных нейтрофилов и особенности их взаимодействия с опухолевыми клетками» является законченной научно-квалификационной работой, имеющей большое научно-практическое значение. По своей актуальности, новизне, уровню проведенных исследований и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям пп. 2.1 – 2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемых к кандидатским диссертациям. Диссертация оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Таким образом, соискатель Сунбули Хетам заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.3. — Молекулярная биология.

Ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН), доктор биологических наук (03.01.03 -Молекулярная биология)



Коваль Ольга Александровна

630090, г. Новосибирск,
пр. Ак. Лаврентьева, 8
телефон: 8 (383) 363-51-90
e-mail: o.koval@niboch.nsc.ru

подпись д.б.н. Коваль О.А. заверяю

Учёный секретарь ФГБУН ИХБФМ СО РАН

телефон: 8 (383) 363-51-55

e-mail: secretary@niboch.nsc.ru



к.б.н. Логашенко Е.Б.

дата отзыва: 4 декабря 2025 г.