

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Троицкой Ольги Сергеевны**
«Исследование способности потенциальных противоопухолевых агентов
индуцировать иммуногенную гибель клеток», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.3. – молекулярная биология

Актуальность исследования

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Троицкой посвящена сравнению эффективности индукции иммуногенной гибели клеток (ICD) под действием новых потенциальных противоопухолевых препаратов на основе лактапина и подхода для противоопухолевой терапии с использованием струи холодной плазмы.

Онкологические заболевания остаются одной из наиболее распространенных причин смерти, что требует разработки новых препаратов и совершенствования методов лечения. Относительно недавно было установлено, что одной из успешных противоопухолевых стратегий является подход, когда противоопухолевый агент не просто вызывает гибель раковых клеток, а погибающие клетки при этом еще и активируют иммунную систему, что ведет к формированию специфического иммунного ответа на опухолевые антигены, и в конечном итоге - к уничтожению оставшихся опухолевых клеток. Использование индукторов иммуногенной гибели клеток, способных запускать противоопухолевый иммунный ответ, может значительно увеличить эффективность противораковой терапии. Исследование, проведенное в данной диссертационной работе, имеет высочайшее теоретическое и прикладное значение, поскольку определение типа гибели, вызываемого противоопухолевыми схемами лечения, и их коррекция, направленная на индукцию гибели опухолевых клеток по иммуногенному типу, могут быть использованы для улучшения результатов противоопухолевой терапии. Таким образом, актуальность работы Ольги Сергеевны Троицкой не вызывает сомнений. Сильными сторонами этой объемной работы является богатая методическая часть и высокий потенциал применения в клинической практике.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В представленной диссертационной работе Ольга Сергеевна впервые провела анализ эффективности индукции ICD в опухолевых клетках как *in vitro*, так и *in vivo* при использовании трех потенциальных противоопухолевых агентов: рекомбинантного аналога лактапина RL2, рекомбинантного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact, кодирующего лактапин и ГМ-КСФ человека, и холодной плазменной струи. Автор впервые демонстрирует вакцинирующий эффект опухолевых клеток, обработанных RL2, при повторной трансплантации живых опухолевых клеток, а также показывает усиление эффекта вакцинации при использовании этилпирувата – ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы. Кроме того, были получены новые интересные данные об увеличении уровня маркера иммуногенной клеточной гибели – белка HMGB1 – в сыворотке крови животных-опухоленосителей после облучения опухолей холодной плазменной струей. Полученные данные позволили

сформулировать вывод о том, что среди исследуемых противоопухолевых агентов рекомбинантный аналог лактапина RL2 является наиболее эффективным индуктором иммуногенной гибели клеток. Новые данные об особенностях индукции гибели опухолевых клеток под действием аналога лактапина, рекомбинантного вируса VV-GMCSF-Lact и холодной плазменной струи закладывают важную практическую основу для внедрения этих подходов в клиническую практику.

Степень обоснованности научных положений и выводов, достоверность полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается их воспроизведением с помощью разных подходов, детальным анализом полученных данных и корректными способами статистической обработки. Выносимые на защиту научные положения основаны на обширном фактическом материале, полученным как самим автором, так и в соавторстве с другими участниками научного коллектива. По материалам диссертационной работы опубликовано четыре научных статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных (в трех из них Ольга Сергеевна является первым автором), и результаты были доложены на шести российских и международных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Троицкой О.С. построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, а также списка использованной литературы. Диссертация изложена на 155 страницах, содержит 46 рисунков, 4 таблицы и список цитируемой литературы из 258 литературных источников.

Во введении автор описывает существующую проблему, формулирует цели и задачи своей работы, обосновывает актуальность исследования, оценивает научную новизну и потенциальную практическую значимость результатов, формулирует положения, выносимые на защиту. Цель исследования четко сформулирована, автор выделяет четыре основных задачи, успешное выполнение которых в ходе работы позволило добиться поставленной цели.

Обзор литературы посвящен особенностям и основным признакам индукции иммуногенной клеточной гибели. Автором описан механизм и основные свойства иммуногенного типа гибели, ведущей к активации специфического противоопухолевого иммунного ответа. Подробно рассмотрена роль основных молекулярных маркеров, позволяющих говорить об индукции ICD. Также в обзоре литературы хорошо систематизированы данные об противоопухолевых агентах, вызывающих иммуногенную гибель, различной природы: химиопрепаратах, цитотоксических белках, онколитических вирусах и физических методах лечения. Обзор литературы очень информативен, легко читается и отражает современные представления о предмете исследования, что демонстрирует отличную теоретическую подготовку Троицкой О.С.

В главе «Экспериментальная часть» детально описаны научно-методологические подходы, которые автор применил для решения поставленных задач и достижения цели

исследования. Подраздел методов содержит достаточно подробное описание широкого набора молекулярно-биологических и иммунологических подходов. Полнота изложения методов в диссертации обеспечивает возможность их дальнейшего воспроизведения.

Раздел диссертационной работы «Результаты и обсуждение» изложен на 60 страницах и разделен на четыре части, из которых первые три посвящены обсуждению результатов по индукции иммуногенной клеточной гибели под воздействием трех противоопухолевых агентов: рекомбинантного аналога лактапина RL2, рекомбинантного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact и холодной плазменной струи. Последний раздел описывает иммунологические эффекты исследуемых противоопухолевых агентов. В результате выполненного исследования автором было проведено сравнение эффективности активации маркеров иммуногенной клеточной гибели в экспериментах *in vitro*, а также оценка противоопухолевого иммунного ответа в экспериментах по вакцинации животных опухолевыми клетками, погибающими под действием исследуемых агентов. Помимо исследования активации молекулярных маркеров данного типа гибели, таких как: экспозиция кальретикулина и белка теплового шока HSP70 на внешнюю плазматическую мембрану, высвобождение АТФ, белка HMGB1 и интерферона альфа в межклеточное пространство, была проведена оценка активности и созревания антигенпрезентирующих клеток. В результате проведенных экспериментов автором было установлено, что среди представленных индукторов рекомбинантный аналог лактапина RL2 наиболее эффективно вызывает иммуногенную клеточную гибель *in vitro* и обладает способностью вызывать противоопухолевый иммунный ответ *in vivo*. Все разделы в главе «Результаты и обсуждение» содержат анализ полученных результатов в контексте известных литературных данных, в конце подразделов имеются заключения.

В разделе «Заключение» автор проводит анализ полученных данных и суммирует полученные результаты в виде сравнительной таблицы, содержащей все полученные результаты по каждому из трех исследуемых индукторов. Выводы диссертации закономерно вытекают из полученных результатов и полностью отражают содержание работы.

Основные результаты диссертационной работы кратко излагаются в хорошо оформленном автореферате, там присутствуют все основные части работы и список публикаций по теме исследования.

Общие замечания

Обзор литературы бы сильно выиграл, если бы автор подробнее сравнил понятия апоптоза, аутофагии, нектоптоза, пироптоза, некроза и других типов клеточной гибели. Сейчас определения и классификация типов клеточной гибели постоянно подвергаются пересмотру, и было бы неплохо отразить это в отдельной главе.

На странице 18 *mir27*-а названа «длинной некодирующей РНК». Я бы все-таки рекомендовал назвать класс некодирующих РНК меньше 200 нуклеотидов «короткими некодирующими РНК».

В таблице 4 лучше было бы конкретизировать, какой именно параметр отражают цифры в процентах и добавить оценку статистической значимости результатов.

Главу «Заключение» сильно бы улучшило обсуждение дальнейших планов по данному проекту в контексте полученных результатов.

Безусловно, все замечания носят рекомендательный характер и никак не умаляют достоинства и высокую значимость работы.

Заключение

Диссертационная работа Троицкой Ольги Сергеевны представляет собой цельное и законченное исследование, в котором подробно рассмотрена индукция иммуногенной клеточной гибели в опухолевых клетках под действием исследуемых новых противоопухолевых агентов. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с использованием широкого спектра молекулярно-биологических методов. Содержание автореферата хорошо отражает содержание работы, иллюстрирует основные положения диссертации, выносимые на защиту, и выводы диссертации. Таким образом, по актуальности темы, новизне полученных результатов и их научной и практической значимости представленная диссертационная работа Троицкой О.С. соответствует требованиям, установленным Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.3. – молекулярная биология (биологические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертация оформлена в соответствии с Приложениями № 5 и 6 Положения о диссертационных советах ИХБФМ СО РАН. Автор диссертации Троицкая Ольга Сергеевна, без сомнения, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией сравнительной геномики

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Доктор биологических наук, профессор РАН

Владимир Александрович Трифонов

21.06.2022

Подпись д.б.н. В.А. Трифонова заверяю

Ученый секретарь ИМКБ СО РАН, к.б.н.



Тариса Григорьевна Ахмерова

21.06.2022

Специальность, по которой официальным оппонентом была защищена диссертация:
03.01.07 – молекулярная генетика.

Адрес места работы:

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Пр. Ак. Лаврентьева, 8/2

630090 г. Новосибирск

Тел: +7 (383)3639078

<http://www.mcb.nsc.ru> E-mail: vlad@mcb.nsc.ru