



Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической  
иммунологии»  
**НИИФКИ**

Ядринцевская, 14,  
г. Новосибирск, 630099  
телефон: (383) 222-26-74, факс: (383) 222-  
70-28  
e-mail: [info@niikim.ru](mailto:info@niikim.ru)  
[www.niikim.ru](http://www.niikim.ru)

**«УТВЕРЖДАЮ»**  
Директор Федерального  
государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский  
институт фундаментальной  
и клинической иммунологии»,  
доктор биологических наук



А.Н. Силков

2023г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» на диссертационную работу Четверякова Андрея Валерьевича «Механизмы развития опухолевой иммуносупрессии в патогенезе рака толстой кишки», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

### Актуальность темы диссертационного исследования

Рак толстой кишки является одним из самых распространенных злокачественных новообразований во всем мире и занимает третье место в структуре онкологической заболеваемости. Исследования последних лет показали, что высокий риск рецидива и прогрессирования колоректального рака во многом обусловлен опухолевой иммуносупрессией. В связи с вышесказанным изучение механизмов угнетения иммунитета у больных раком толстой кишки представляет значительный интерес. В этом контексте особое значение в последние годы отводится исследованию роли ингибиторных рецепторов и их лигандов, получивших название иммунных контрольных точек (ИКТ) или «чек-пойнт» молекул. Роль данных молекул в подавлении иммунитета и опухолевой прогрессии продемонстрирована при раке легкого, молочной железы, меланоме. Также показано, что высокая концентрация ИКТ сопряжена с ранним метастазированием опухоли. Установлено, что ИКТ, обладая способностью ингибировать функции эффекторных Т-клеток и активировать Т-регуляторные



клетки с супрессорной активностью, способствуют «ускользанию» опухоли от иммунного надзора. При этом, судя по данным литературы, значимость отдельных ингибиторных молекул в подавлении противоопухолевого иммунного ответа при разных видах злокачественных новообразований может варьировать. Роль ингибиторных «чек-пойнт» молекул, особенно их растворимых форм при раке толстой кишки, исследована недостаточно. Вместе с тем, осмысление роли этих молекул в формировании опухолевой иммуносупрессии у больных раком толстой кишки может расширить представления о механизмах, посредством которых опухоль преодолевает иммунный контроль. Кроме того, исследования в данном направлении представляют интерес с точки зрения поиска новых прогностических биомаркеров и мишеней для таргетной терапии. Таким образом, работа А.В. Четверякова, посвященная изучению патогенетической значимости «чек-пойнт» молекул при раке толстой кишки, является актуальной и представляет несомненный теоретический и практический интерес.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа Четверякова А.В. представляет собой завершённое исследование, выполненное на высоком научном уровне. Поставленная автором цель – установить патогенетическое значение иммунных контрольных точек, растворимой формы CD25 и трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 в формировании опухолевой иммуносупрессии при раке толстой кишки, полностью отражает суть работы, четко сформулированные задачи определяют дизайн и алгоритм выполнения исследования.

Достоверность результатов работы и их обоснованность определяются применением современных методов исследования и адекватных методов статистической обработки данных. Научные положения, представленные в диссертации, четко аргументированы, доказаны достаточным объемом выборки пациентов, а также высоким методическим уровнем современных клинических и лабораторных методик исследования. Полученные результаты исследования обработаны адекватными статистическими методами с применением корреляционного и ROC анализа. Иллюстративный материал нагляден и корректно оформлен. В работе использовано достаточное количество современной литературы, в том числе зарубежной. Выводы логичны, вытекают из полученных результатов исследования, имеют научную и практическую значимость.

Результаты исследования представлены на Форуме онкологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 10-11 июня 2022 г.); V Юбилейном



международном форуме онкологии и радиотерапии (Москва, 19-23 сентября 2022 г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы патофизиологии» (Чита, 11 ноября 2022 г.); VII Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 21-23 декабря 2022 г.). По материалам диссертации опубликовано 10 работ в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, одна публикация представлена в журнале, входящем в список международных реферативных баз данных и систем цитирования (Scopus). Автореферат полностью отражает основное содержание работы.

### **Научная новизна диссертационной работы**

Автором выявлены новые механизмы развития опухолевой иммуносупрессии при раке толстой кишки, в основе которых лежит увеличение в ткани опухоли и сыворотке крови концентрации ко-ингибирующих иммунных контрольных точек TIM-3, LAG-3, а также молекулы Galectin-9, которая является лигандом белка TIM-3. Автором показано, что увеличение концентрации белка CTLA-4 в ткани опухоли при доброкачественных и злокачественных новообразованиях толстого кишечника носит неспецифический характер и не зависит от вида опухоли. Диссертантом установлено, что увеличение уровня TIM-3, Galectin-9 и LAG-3 сопровождается угнетением адаптивного иммунитета, что выражается в уменьшении количества Т-клеток ( $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ ) в крови. Кроме того, автором впервые показано, что концентрация растворимых молекул TIM-3, LAG-3 в опухолевой ткани обратно коррелирует с уровнем циркулирующих цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом  $CD3^+CD8^+CD57^+$  и Т-клеток центральной памяти с фенотипом  $CD8^+CD45-CD62-$ , характеризующихся высоким цитотоксическим и миграционным потенциалом.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов**

Научная значимость полученных автором данных заключается в выявлении новых механизмов угнетения адаптивного иммунитета при колоректальном раке. Установлено, что важным звеном патогенеза опухолевой иммуносупрессии являются белки TIM-3 и LAG-3, а также лиганд Galectin-9. Установлено, что высокая концентрация белков TIM-3 и LAG-3 в ткани опухоли и сыворотке крови сопровождается снижением количества цитотоксических Т-лимфоцитов. Определены клетки-мишени, через которые реализуют свои эффекты указанные молекулы.



Практическая значимость работы заключается в установлении пороговых значений для белка TIM-3 и Galectin-9, CTLA-4 и B7-2, молекулы sCD25 в сыворотке крови, которые имеют значимость в ранней диагностике онкологической патологии толстой кишки. На основании полученных данных разработана компьютерная программа для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022613721).

### **Структура, содержание работы, ее завершенность и оформление**

Диссертация Четверякова А.В. выполнена в традиционном стиле, построена по классическому принципу. Работа изложена на 109 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка используемой литературы, включающего 167 источников.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, делает акценты на значимых достижениях, связанных с изучаемой проблемой. Сформулированы цель и задачи исследования, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных данных.

В литературном обзоре автор анализирует современные данные и даёт представление об ИКТ и их роли в патогенезе опухолевой иммуносупрессии. Также рассматривается текущий уровень научных достижений и применение полученных данных в современной лекарственной терапии.

Во второй главе автор излагает дизайн работы, приводит общую схему и подробно раскрывает методологические подходы к задачам исследования. Концентрацию иммунных контрольных точек в сыворотке крови и ткани опухоли, а также количественный состав Т-лимфоцитов в крови, автор определял с помощью метода проточной цитофлуориметрии.

В третьей и четвертой главах представлены результаты исследования, полученные лично автором. Установлены уровни исследуемых молекул в ткани опухоли и сыворотки крови у пациентов с новообразованием толстой кишки и группы контроля. Выявлено количество основных популяций Т-клеток и субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов в крови у больных с опухолью толстой кишки. Определены корреляционные связи между концентрацией ИКТ в ткани новообразования и количеством Т-лимфоцитов в крови. Данные изложены в полном объеме, корректно и грамотно, методология исследования соответствует современным требованиям.



В пятой главе диссертант подробно анализирует полученные результаты работы в сравнении с данными зарубежных и отечественных ученых и в заключении приводит собственную разработанную схему патогенеза опухолевой иммуносупрессии при раке толстой кишки, которая лаконично отражает суть полученных результатов. Выводы работы полностью соответствуют представленным результатам.

Диссертация производит благоприятное впечатление, она оригинальна, высоко технологична, логично выстроена. Хочется отметить хороший академический язык и грамотность изложения материала.

Основное содержание диссертации отражено в автореферате. Таким образом, представленная к защите диссертация является законченной работой, в которой решены все поставленные задачи.

### **Личное участие автора**

Диссертация является личным трудом Четверякова Андрея Валерьевича. Автор определил цель, задачи и методы исследования, выполнил поиск научной литературы по теме работы. Автор лично провел общеклиническое обследование пациентов, забор материала, статистический анализ и интерпретацию полученных данных. Четверяков А.В. самостоятельно сформулировал выводы и практические рекомендации, оформил текст диссертации и автореферата.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Практическая значимость и научная новизна результатов диссертационного исследования Четверякова А.В. обосновывает их использование в процессе обучения студентов при проведении практических занятий и лекций на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации. Разработанная автором компьютерная программа для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника рекомендуется к использованию в работе амбулаторно-поликлинических учреждений.

### **Замечания и вопросы**

Принципиальных замечаний к работе нет. В качестве пожеланий хотелось бы порекомендовать автору более аккуратно использовать такие формулировки как «центральным патогенетическим звеном опухолевой прогрессии ... является белок TIM-3 ...» или «основным патогенетическим механизмом действия TIM-3 и LAG-3 является снижение цитотоксических Т-клеток..». Так, в первом случае автор не изучал «другие» механизмы опухолевой прогрессии, а во втором



случае – не исследовал эффект ингибиторных рецепторов на другие типы иммунных клеток. В выводах следует приводить только собственные данные. Например, автор пишет о корреляционной связи ингибиторных молекул с количеством CD8+CD57+ цитотоксических клеток, продуцирующих гранзимы и перфорины, однако продукцию этих молекул непосредственно не измерял (это данные литературы).

В процессе рецензирования также сформировался ряд вопросов уточняющего характера.

1). Разработанная автором компьютерная программа для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника базировалась на анализе обучающей выборки. Имеются ли результаты анализа ошибок 1-го и 2-го рода при использовании этой программы на проверочной выборке?

2). Автором выявлена обратная корреляция между уровнем TIM-3 или LAG-3 в опухолевой ткани и содержанием цитотоксических клеток в периферической крови. Имеется ли подобная корреляция с уровнем TIM-3 или LAG-3 в периферической крови?

### **Заключение**

Диссертация Четверякова Андрея Валерьевича на тему: «Механизмы развития опухолевой иммуносупрессии в патогенезе рака толстой кишки» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, заключающейся в раскрытии роли иммунных контрольных точек в патогенезе опухолевой иммуносупрессии, выражающейся в угнетении адаптивного иммунитета, что имеет существенное значение для патологической физиологии.

Научная работа А.В. Четверякова соответствует пунктам паспорта специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки): п. 2 – изучение механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенных факторов, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний; п. 6 – изучение механизмов, лежащих в основе различных исходов и осложнений болезни; анализ причин и механизмов развития неполного выздоровления и формирования хронического течения болезни; п. 8 – изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов.

Таким образом, диссертационная работа А.В. Четверякова по своей актуальности, новизне, научно-практической значимости соответствует



требованиям п.9 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 "О порядке присуждения ученых степеней" (в редакции от 26.10.2023 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Соискатель Четверяков А.В. достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

Диссертация Четверякова Андрея Валерьевича на тему: «Механизмы развития опухолевой иммуносупрессии в патогенезе рака толстой кишки» и отзыв на нее обсуждены и одобрены на заседании ученого совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Протокол № 14 от 26 декабря 2023 г.).

Заместитель директора по научной работе,  
заведующая лабораторией клеточной  
иммуноterapiи Федерального  
государственного бюджетного научного  
учреждения «Научно-исследовательский  
институт фундаментальной и клинической  
иммунологии» (НИИФКИ),  
доктор медицинских наук  
профессор, член-корреспондент РАН



Черных Елена Рэмовна

«26» декабря 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»  
Адрес: 630099, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, дом 14. Телефон: 8(383) 22-22-67  
Электронная почта: info@niikim.ru, Сайт: <https://www.niikim.ru>

Подпись доктора медицинских наук,  
профессора, члена-корреспондента РАН  
Е.Р. Черных заверяю  
ученый секретарь НИИФКИ  
кандидат биологических наук  
Гаврилова Елена Давидовна

