

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента Академии наук Республики Татарстан Бойчука Сергея Васильевича на диссертацию Четверякова Андрея Валерьевича «Механизмы развития опухолевой иммуносупрессии в патогенезе рака толстой кишки», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

Актуальность темы исследования. Колоректальный рак (КРР) является одним из самых распространенных видов злокачественного новообразования во всем мире. Рак толстой кишки занимает третье место в мире по заболеваемости и второе по смертности. Несмотря на внедрение современных способов хирургического, лучевого, химиотерапевтического лечения и таргетной терапии при КРР сохраняется высокий процент рецидива и прогрессирования заболевания после проведенного комплексного лечения. В литературе имеется большое количество работ, свидетельствующих о том, что прогрессирование заболевания у данной категории пациентов обусловлено развитием опухолевой иммуносупрессии, проявляющейся снижением как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Между тем, в настоящее время недостаточно изучены механизмы угнетения иммунной системы у больных с КРР. В этом аспекте наибольший интерес вызывают иммунные контрольные точки (ИКТ). Последние представляют собой целую группу белковых молекул, ограничивающих иммунный ответ на различные антигены и предотвращающих развитие аутоиммунных заболеваний. В последние годы во всем мире ведется изучение роли ИКТ (CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3) в канцерогенезе при различных видах злокачественного новообразования. Анализ научной литературы свидетельствует о том, что в формировании опухолевой иммуносупрессии при различных видах рака вносят вклад различные иммунные контрольные точки. Так, при меланоме ведущее значение играет CTLA-4, при раке желудка и лёгкого это белок запрограммированной смерти (PD-1).

Получены моноклональные антитела, блокирующие взаимодействие ИКТ со своим лигандом. Лекарственные препараты на основе моноклональных антител, блокирующие ИКТ, явились началом нового направления в лечении больных со злокачественными новообразованиями, получившего название - таргетная терапия. Данные препараты в настоящее время активно изучают во всем мире. При ряде локализаций они показали обнадеживающие результаты. В настоящее время данных о роли ИКТ в патогенезе развития опухолевой иммуносупрессии при раке толстой кишки недостаточно, часть из них противоречива.

Таким образом, исследование А.В. Четверякова имеет высокую актуальность, как с теоретической, так и практической точек зрения и направлено на раскрытие новых механизмов угнетения иммунитета, что позволит определить новые мишени для таргетной терапии больных раком толстой кишки.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, результатов и выводов. Поставленная автором цель полностью отражает суть работы, четко сформулированные задачи позволяют достичь выполнение цели исследования. Научные положения, представленные в диссертации Четверякова А.В., четко аргументированы и лаконичны, доказаны высоким методическим уровнем современных клинических и лабораторных методов исследования, подтверждены в достаточной мере полнотой и глубиной анализа собственного материала. Выводы логичны, вытекают из полученных результатов исследования, имеют научную и практическую значимость.

Проведено одномоментное открытое контролируемое исследование 94 пациентов, из которых 69 больных с опухолью толстой кишки и 25 контрольная группа. Достоверность полученных результатов определяется достаточной выборкой исследуемых, количеством проведенных исследований, а также применением современных методов лабораторной и инструментальной диагностики. Результаты исследования, представленные в диссертации, обработаны адекватными непараметрическими статистическими методами с использованием

корреляционного и ROC анализов. Диссертационное исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 98 от 27.11.2019г.).

Новизна результатов исследования. На основании результатов исследования установлены новые механизмы развития опухолевой иммуносупрессии, обусловленные участием белка TIM-3 и его лиганда Galectin-9, а также молекулы LAG-3 в ингибировании иммунитета у больных с колоректальным раком. Диссертант установил, что увеличение уровня TIM-3, Galectin-9 и LAG-3 сопровождается угнетением адаптивного иммунитета, что выражается в уменьшении количества Т-клеток (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺) в крови. Автором впервые показано, что основной патогенетический механизм действия молекул TIM-3 и LAG-3 заключается в снижении количества субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов со следующими фенотипами: CD3⁺CD8⁺CD57⁺ и CD3⁺CD8⁺CD45RA⁻CD45RO⁺CD62L⁺CCR7⁺. Уменьшение количества цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD57⁺, адгезивную молекулу CD62L и хемокиновый рецептор CCR7 и продуцирующих гранзимы и перфорины приводит к угнетению эффекторного звена адаптивного иммунитета у больных с колоректальным раком.

Значимость полученных результатов для науки и практического применения. Научная значимость работы заключается в определении новых механизмов развития опухолевой иммуносупрессии при раке толстой кишки. Показано, что высокая концентрация белков TIM-3 и LAG-3 в ткани опухоли и сыворотке крови сопровождается снижением адаптивного иммунитета.

Практическая значимость работы состоит в определении пороговых значений для TIM-3 и его лиганда Galectin-9, белка CTLA-4 и лиганда B7-2, а также молекулы sCD25 в сыворотке крови. Полученные данные важны для скрининга онкологической патологии толстой кишки, что имеет значимость в своевременном

выявлении новообразований толстой кишки. Автором разработана программа для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022613721).

Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия». Результаты исследования внедрены в практическую работу поликлиники ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер» г. Читы.

Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах. Основные результаты диссертации опубликованы в виде 16 печатных работ, в том числе 10 представлены в научных изданиях, входящих в список, определенный Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата наук. Одна публикация представлена в научном рецензируемом журнале, входящем в список международных реферативных баз данных и систем цитирования (Scopus Q4).

Результаты исследования представлены на Форуме онкологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 2022 г.); V Юбилейном международном форуме онкологии и радиотерапии (Москва, 2022 г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы патофизиологии» (Чита, 2022 г.); VII Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 2022 г.).

Содержание и оформление диссертации. Работа оформлена в традиционном стиле, изложена на 109 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, главы обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 167

источников (18 отечественных и 149 иностранных), списка условных сокращений. Текст работы иллюстрирован 19 таблицами и 7 рисунками.

В главе «Введение» автор обосновывает актуальность исследования. Сформулированы цель и задачи исследования, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных данных, количество публикаций в научных изданиях, входящих в список, определенный Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ.

Первая глава посвящена обзору литературы по теме исследования. Описаны современные представления об иммунных контрольных точках и их роли в патогенезе опухолевой иммуносупрессии при различных видах злокачественных новообразований. Подробно описана молекулярная характеристика иммунных контрольных точек, а также других молекул, которые вносят вклад в развитие опухолевой иммуносупрессии.

Во второй главе раскрыт дизайн работы, который представлен в виде лаконичной схемы, указаны материалы и методы исследования. Автор использовал современные методы исследования, включая мультиплексный анализ и метод проточной цитометрии. Присутствуют данные о характеристике групп, критерии включения и исключения из исследования, указана характеристика гистологического материала. Исследование выполнено согласно требованиям комиссии по этике ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.).

В третьей и четвертой главах представлены результаты исследования, полученные лично автором. Определены уровни исследуемых молекул в ткани опухоли и сыворотки крови у пациентов с новообразованием толстой кишки и группы контроля. Установлено количество Т-лимфоцитов и их основных популяций в крови, а также субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов у больных с КРР. Выполнен корреляционный анализ и установлены связи между уровнем ИКТ в ткани новообразования и количеством цитотоксических Т-

лимфоцитов и их основных субпопуляций. Определен уровень пороговых значений для TIM-3 и его лиганда Galectin-9, белка CTLA-4 и лиганда B7-2, а также молекулы sCD25 в сыворотке крови, имеющий значение для ранней диагностики новообразований толстой кишки. Данные изложены в полном объеме, корректно и грамотно, методология исследования соответствует современным требованиям.

В пятой главе диссертант проанализировал результаты, полученные при выполнении работы, сравнил их с данными зарубежных и отечественных ученых. Автор отмечает, что увеличение концентрации иммунных контрольных точек (TIM-3 и LAG-3) в опухолевой ткани и сыворотке крови у больных КРР ведет к угнетению адаптивного иммунитета. Основной механизм действия молекул TIM-3 и LAG-3 заключается в снижении количества субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом CD8⁺CD57⁺, имеющих ключевое значение в киллинге опухолевых клеток. По результатам исследования автором разработана интегральная схема патогенеза опухолевой иммуносупрессии при КРР.

Автореферат полностью отражает основное содержание работы.

Принципиальных замечаний по работе нет. В ходе рецензирования возникли следующие вопросы, требующие обсуждения в порядке дискуссии:

1. Учитывая тот факт, что одна из основных функций LAG-3 заключается в подавлении активности лимфоцитов, а уровень экспрессии растворимой формы CD25 (sCD25) является отражением активации данных клеток, каким образом Вы можете объяснить однонаправленный характер изменений вышеуказанных показателей у пациентов с колоректальным раком?
2. Является ли снижение количества цитотоксических лимфоцитов и киллеров при колоректальном раке следствием их перераспределения в опухолевую ткань и каков механизм снижения численности вышеуказанных популяций лимфоцитов при колоректальном раке?

3. Существует ли, на Ваш взгляд, корреляционная зависимость между выявленными Вами изменениями популяционного состава лимфоцитов в периферической крови и опухолевой ткани при колоректальном раке?

Следует отметить, что приведенные замечания не носят принципиального характера и не умаляют ценности проведенного исследования, а представленная диссертационная работа заслуживает положительной оценки.

Заключение. Диссертация Четверякова Андрея Валерьевича на тему: «Механизмы развития опухолевой иммуносупрессии в патогенезе рака толстой кишки», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки), является законченным научно-квалификационным трудом, в котором решена важная задача, заключающаяся в определении новых механизмов развития опухолевой иммуносупрессии у больных с колоректальным раком, которые реализуются контрольными иммунными точками, блокирующими адаптивный иммунитет, что выражается в уменьшении количества основных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов в крови, что имеет существенное значение для патологической физиологии.

Диссертационная работа Четверякова А.В. соответствует следующим 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.

Диссертация Четверякова А.В. 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 Андрей Валерьевич достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент Академии наук
Республики Татарстан, заведующий
кафедрой общей патологии
ФГБОУ ВО «Казанский
государственный медицинский
университет» Минздрава России

Бойчук Сергей Васильевич

На обработку и размещение моих персональных данных в сети
согласен _____

Данные о докторе медицинских наук,
профессоре, члене-корреспонденте
Академии наук Республики Татарстан
Бойчуке С.В. заверены

Ученый секретарь ФГБОУ ВО
«Казанский государственный
медицинский университет»
Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор



Мустафин Ильшат Ганиевич

«11» января 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 420000, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, 49

Тел: 8(843) 236-72-63

E-mail: boichuksergei@mail.ru