

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
государственного
бюджетного научного учреждения
«Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»

доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН



Куцев С.И.

«21» _____ 2021 г.

Handwritten signature of S.I. Kucev in blue ink.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
о научно-практической ценности диссертации Карповой Регины
Васильевны на тему «Иммуноадгезионные механизмы в развитии
экспериментальных опухолей», представленной на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. –
Онкология, лучевая терапия**

Актуальность темы исследования

Нарушение адгезионных взаимодействий считают специфическим свойством опухолевого процесса, которое обеспечивает основные проявления опухоли: потерю местного (тканевого) контроля пролиферации, анаплазию, ускользание опухоли от иммунологического надзора, инвазию и метастазирование.

Формирование устойчивости к опухолеобразованию в эпителиальных тканях генетически обусловлено и связано с повышением интеграции клеток ткани-мишени на заключительном этапе ее дифференцировки в раннем постнатальном онтогенезе. В эпителиальных тканях, генетически предрасположенных к опухолям, усиления межклеточных контактов в

критический период дифференцировки не происходит, что обеспечивается дефицитом тканеспецифических молекул адгезии. Возникающий позже недостаток гистонеспецифических молекул адгезии (например, из семейства ICAM сверхсемейства иммуноглобулинов) на опухолевых клетках приводит к снижению экспрессии функционально гомологичных молекул лейкоцитарных интегринов, в том числе LFA-1 и Mac-1, ограничивая адгезионные взаимодействия эффекторов иммунитета и клеток-мишеней, ослабляя элиминацию последних, в том числе цитотоксическими лимфоцитами. Это вносит определенный вклад в экранирование опухоли от иммунологического надзора.

Вместе с тем, нарушение иммуноадгезионных механизмов при опухолевом процессе и снижение цитолитической активности иммунных эффекторов в отношении опухолевых клеток обеспечивается цитокиновым сопровождением, в частности, повышением уровня интерлейкинов 6 и 10.

Обеспечение адгезионных взаимодействий между эффекторами иммунитета и клетками-мишенями может находиться, в том числе, и под контролем центральных механизмов с участием одного из основных нейромедиаторов – катехоламина дофамина. Из литературы известны его геропротекторные, антидепрессантные, стресс-регулирующие и противоопухолевые свойства. При этом центральный дофамин прямо влияет на уровень дофамина в периферическом организме. Будучи продукцией, в том числе, и лимфоцитов, периферический дофамин участвует в активной фазе реакций иммунитета против опухоли, способствуя дифференцировке цитотоксических лимфоцитов, их миграции в опухолевые узлы и образованию конъюгатов с опухолевыми клетками.

Таким образом, тема диссертационной работы Карповой Р.В., целью которой является изучение роли иммуноадгезионных механизмов в контроле уровня опухолеобразования и продолжительности жизни животных, генетически предрасположенных к развитию гепатокарцином, представляется

актуальной. Задачи для ее достижения сформулированы автором в логической последовательности и конструктивно решены в процессе работы.

Разработка данной темы обусловлена необходимостью и востребованностью выявления фундаментальных основ и механизмов супрессии (недостаточности) иммунологического надзора и поиска путей направленной коррекции иммунореактивности организма в отношении опухолей для повышения продолжительности жизни.

Связь темы диссертационной работы с планом научных исследований

Диссертационная работа Карповой Р.В. «Иммуноадгезионные механизмы в развитии экспериментальных опухолей» выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России.

Научная новизна исследования

Результаты, полученные в ходе реализации поставленных задач, определили несомненную новизну исследования.

Диссертантом впервые установлено снижение экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1 на клетках периферической крови, концентрации анаболического гормона тестостерона в сыворотке крови, численности дофаминергических нейронов и пролиферирующих молодых нейронов головного мозга, а также повышение концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и стресс-гормона кортикостерона в сыворотке крови мышей линии СВА, генетически предрасположенных к гепатоканцерогенезу.

Автором получены новые данные, позволяющие конкретизировать фенотипические характеристики опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов. Впервые выявлено, что инфильтрация спонтанных гепатокарцином цитотоксическими CD8⁺лимфоцитами, экспрессирующими молекулы лейкоцитарных интегринов LFA-1 Mac-1, может иметь значение для элиминации опухолевых клеток и увеличения продолжительности жизни животных.

В результате проведенных исследований диссертантом определено снижение частоты опухолеобразования, уменьшение количества и объема опухолей, повышение продолжительности жизни при сохранении удовлетворительного соматического статуса, сочетающиеся с инфильтрацией опухолей цитотоксическими CD8+лимфоцитами, экспрессирующими LFA-1 и Mac-1 лейкоцитарные интегрины, при коррекции экспрессии лейкоцитарных интегринов на лимфоцитах периферической крови, численности дофаминергических нейронов головного мозга, сывороточной концентрации ИЛ-6, ИЛ-10, тестостерона и кортикостерона у мышей-самцов СВА, генетически предрасположенных к гепатоканцерогенезу, при воздействии нетоксичного агента с адгезиогенными свойствами.

Впервые выявлена высокая положительная корреляция численности дофаминергических нейронов головного мозга в позднем онтогенезе и продолжительности жизни мышей-самцов СВА ($R = + 0,93 \pm 0,02$). Впервые показана высокая отрицательная корреляция численности дофаминергических нейронов и частоты спонтанных гепатокарцином у мышей-самцов СВА ($R = - 0,91 \pm 0,03$).

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

Успешно решить поставленные задачи автору позволил, в том числе, выбор адекватной экспериментальной модели генетической предрасположенности мышей линии СВА к гепатокарциномам с высоким риском их возникновения. Наличие дистальной хромосомы 1, несущей один и более генов, создает условие для повышения их чувствительности, особенно самцов, к спонтанному и химически индуцированному гепатоканцерогенезу. У мышей этой линии опухоли начинают возникать с 6-месячного возраста, и в позднем онтогенезе у мышей-самцов выявляют гепатокарциномы в 100% случаев. Вместе с тем, эта модель максимально приближена к ситуации в клинической онкологии, когда опухоли у больных возникают, в том числе, как результат наследственной предрасположенности.

Теоретические и научно-практические выводы диссертации основаны на значительном экспериментальном материале, длительном периоде наблюдения (с рождения до естественной гибели животных), корректном использовании современных методов анализа.

Результаты базируются на оценке наблюдений 997 мышей-самцов линии СВА в трех временных периодах онтогенеза, при воздействии двух форм комплексного фитоадаптогена, кратковременно (в раннем онтогенезе) и длительно (во второй половине жизни), при исследовании экспрессии CD11a и CD11b антигенов (лейкоцитарные интегрины LFA-1 и Mac-1, соответственно) на клетках периферической крови (методом непрямой иммунофлуоресценции), концентрации интерлейкинов 6 и 10, а также гормонов кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови (методом иммуноферментного анализа), массы тела животных и состояния шерстного покрова, численности дофаминергических нейронов (иммуногистохимическим методом по количеству тирозингидроксилаза-позитивных клеток в среднем мозге), количества молодых нейронов (иммуногистохимическим методом по количеству Ki67-позитивных клеток в субгранулярном слое зубчатой фации гиппокампа), показателей двигательной (поведенческой) активности животных в тесте "открытое поле" (с учетом пройденного пути, времени без движения, числа «стоек» и мелких движений), структурных изменений ткани печени, фенотипических характеристик опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (иммуногистохимическое выявление CD8, CD11a, CD11b антигенов). Также автором проведена оценка частоты опухолеобразования, объема опухолей в возрасте животных 8 и 22 мес, средней продолжительности жизни, выживаемости животных (по методу Kaplan-Meier). Для статистической обработки данных и выявления корреляции продолжительности жизни, частоты опухолеобразования, численности дофаминергических нейронов автором были применены адекватные методы статистического анализа.

Режимы воздействия комплексного фитоадаптогена обоснованы результатами предыдущих исследований. Профилактическое воздействие комплексного фитоадаптогена проводили в течение первого месяца жизни животных, включая период завершения дифференцировки нормальной ткани печени. Лечебное воздействие осуществляли с периода появления первых опухолей (с 6 месячного возраста) до естественной гибели животного.

Целесообразность выбранного агента можно определить комплексом входящих в него биологически активных компонентов экстрактов сорока растений, в том числе адаптогенов. В состав комплексного фитоадаптогена входят соединения фенольной природы, в том числе флавоноиды, фенолгликозиды, тритерпеновые гликозиды (гинзенозиды, аралозиды, элеутерозиды, салидрозид, арбутин, урсоловая кислота, олеаноловая кислота, глицирризиновая кислота и др.) Учитывая, что в качестве узкобороздочных лигандов последние могут оказывать прямое или опосредованное действие на процессы репарации ДНК, проявляя антиканцерогенные эффекты, данные соединения считают эффективными в составе препаратов для профилактической онкологии. Подобные вещества являются антимутагенами, могут защищать нервные клетки от повреждений, задерживая дегенерацию и предупреждая гибель дофаминергических нейронов; они являются индукторами дифференцировки, корректорами гомо- и гетеротипических адгезионных взаимодействий, сочетая противоопухолевые эффекты вместе с усилением резистентности здоровых тканей к повреждению; обладают антипролиферативной и проапоптотической активностью в отношении опухолевых клеток.

Выводы диссертации полностью соответствуют поставленным задачам и базируются на конкретных результатах, полученных соискателем, а также выявленных патогенетических закономерностях.

**Значимость полученных результатов для развития соответствующей
отрасли науки**

Возможность регуляции численности дофаминергических нейронов головного мозга при коррекции периферических иммунноадгезионных механизмов с участием лейкоцитарных интегринов и сигнальной реактивности цитокинов, сывороточного содержания стресс-гормона кортикостерона и тестостерона, а также частоты опухолеобразования, выживаемости и соматического состояния мышей-самцов СВА, генетически предрасположенных к развитию гепатокарцином, предполагает роль центральных нейрональных (при участии дофаминергической системы) и периферических иммунноадгезионных механизмов в контроле злокачественного опухолеобразования и увеличения продолжительности жизни. Данные результаты могут быть обоснованием включения геропротекторов в потенциал профилактики и терапии злокачественных новообразований.

Выявленная связь нарушения периферических иммунноадгезионных механизмов с потерей дофаминергических нейронов головного мозга детализирует механизм опухолеобразования в результате хронического стресса.

Несомненным достоинством работы Карповой Регины Васильевны является тот факт, что инфильтрация спонтанных гепатокарцином мышей-самцов СВА цитотоксическими CD8⁺лимфоцитами, экспрессирующими лейкоцитарные интегрины LFA-1 и Mac-1, сочетается с замедлением опухолевого процесса и увеличением продолжительности жизни животных, что открывает перспективы применения воздействий с адгезиогенными свойствами в качестве компонентов терапии злокачественных новообразований.

Тест-система, разработанная в рамках диссертационной работы, включающая высокоразовую линию мышей, а также представленный комплекс параметров (экспрессия лейкоцитарных интегринов LFA и Mac-1 на клетках периферической крови, сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10, содержание гормонов кортикостерона и тестостерона, численность

дофаминергических нейронов, фенотип опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, частоту опухолеобразования, продолжительность жизни и соматический статус животных) может использоваться для изучения нетоксичных препаратов, перспективных для профилактики развития злокачественных новообразований у лиц с повышенным риском, а также с целью замедления процесса, особенно, при гепатокарциномах.

Полученные в данной работе результаты могут служить обоснованием разработки комплексных адаптогенных препаратов-геропротекторов для профилактики и биотерапии онкологических заболеваний, что открывает в онкогеронтологии перспективы при создании комплементарных лекарств-регуляторов для использования в онкологии, в частности, и геронтологии, в общем.

Приоритет исследований по теме диссертации подтвержден двумя патентами Российской Федерации «Способ профилактики развития опухолей у экспериментальных животных с высокой частотой спонтанного опухолеобразования» (№ 2507599) и «Способ лечения экспериментальных животных с высокой частотой спонтанного опухолеобразования» (№ 2481849).

Характеристика публикаций автора по теме диссертации

Основные положения и результаты диссертации Карповой Р.В. отражены в 70 публикациях, включая 28 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Работа поддержана двумя патентами Российской Федерации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Разработанные на основе результатов диссертации методические руководства, посвященные способам оценки профилактической и противоопухолевой активности иммуномодуляторов *in vivo* на модели спонтанного гепатоканцерогенеза целесообразно применять на практике при

скрининге нетоксичных адаптогенных препаратов (в том числе, растительного происхождения), перспективных в качестве компонентов профилактических и биотерапевтических воздействий в онкологии. Рекомендовано использовать результаты исследования для лекционного материала кафедр онкологической и молекулярно-биологической специализации в высших учебных заведениях.

Оценка содержания диссертации

Диссертация представлена на 216 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 10 глав результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Иллюстрации включают 27 таблиц и 28 рисунков. Список литературы содержит 76 отечественных и 373 зарубежных источников. Написана хорошим научным языком.

Цель и задачи исследования сформулированы четко, логично, работа им полностью соответствует. Полученные результаты проанализированы и сопоставлены с подобными отечественными и зарубежными исследованиями.

Выводы диссертации логично вытекают из результатов, подтверждены фактическим материалом, аргументированы.

Автореферат полностью отражает содержание и выводы диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Карповой Р.В. «Иммуноадгезионные механизмы в развитии экспериментальных опухолей» является законченным научно-квалификационным трудом, представляющим собой весомое достижение в области фундаментальной и практической онкологии, решая проблему иммуноадгезионных механизмов онкогенеза для усиления иммунореактивности организма против злокачественных новообразований.

Представленная работа соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, от 11 сентября 2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Карпова Регина Васильевна, достойна присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Диссертация Карповой Р.В. «Иммуноадгезионные механизмы в развитии экспериментальных опухолей обсуждена на заседании лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (протокол №6 от 17.12. 2021 г.)

Заведующая лабораторией молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
доктор биологических наук, доцент (03.02.07 – Генетика)

17.12.2021

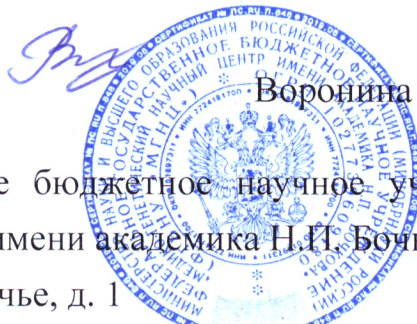


Костюк Светлана Викторовна

Подпись доктора биологических наук, доцента Костюк С.В. удостоверяю:
Ученый секретарь

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

кандидат медицинских наук



Воронина Екатерина Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

E-mail: mgnc@med-gen.ru Официальный сайт: www.med-gen.ru

Тел. 8-499-612-86-07