

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук Уласова И.В. на диссертационную работу Царапаева Павла Валерьевича «Адьювант для усиления эффективности пептидной противоопухолевой вакцины», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Иммунотерапия прочно вошла в клиническую практику как один из ключевых методов лечения онкологических заболеваний. Противоопухолевые вакцины рассматриваются как один из наиболее безопасных и персонализированных инструментов иммунного воздействия. Тем не менее, несмотря на технологический прогресс, успешная реализация этой концепции сталкивается с рядом барьеров, в первую очередь — с отсутствием клинически применимых, малотоксичных и при этом эффективных адьювантов. Наиболее перспективный адьювант, такой как Poly(I:C), хотя и широко используются в доклинических моделях, в клинику внедрен не был из-за выраженных побочных эффектов. В этой связи задача поиска альтернативных адьювантов, обладающих сопоставимой эффективностью, но улучшенным профилем безопасности, становится крайне актуальной. Проведённая работа в этом контексте представляет очевидный научный интерес, поскольку направлена на выбор адьюванта для дальнейшего внедрения в состав противоопухолевых вакцин нового поколения.

Научная новизна

Впервые проведено систематическое сравнение адьювантов Poly(I:C), Ридостина Про и полного адьюванта Фрейнда в составе пептидной противоопухолевой вакцины. Установлено преимущество Ридостина Про по ряду ключевых иммунологических параметров, включая активацию Т-

клеточного ответа, продукцию IFN- γ и уровень экспрессии CD69. Впервые показана его способность значительно усиливать эффективность пептидной вакцины как в терапевтическом, так и в профилактическом режиме, особенно на моделях меланомы и лимфомы. Данные результаты открывают новые перспективы использования Ридостина Про в онкоиммунологии.

Достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и практических рекомендаций

Автор использовал современные методы оценки иммунного ответа: ELISpot, проточную цитометрию, мультиплексный анализ цитокинов. Противоопухолевый эффект вакцин оценивали на валидных моделях B16-F10 и EG7-OVA. Для обработки собранных данных была использована статистическая обработка данных с использованием современных подходов математической статистики. Анализ результатов ELISpot проводили с использованием программ Excel и GraphPad Prism 5.0, результаты сравнивали с помощью непарного t-теста и критерия Манна–Уитни. Наличие необходимых контролей, корректная интерпретация данных и их сопоставление с литературными источниками подтверждают достоверность и обоснованность сделанных выводов.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа построена по традиционной схеме, изложена на 113 листах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав: 1) обзор литературы, 2) материалы и методы, 3) результаты и 4) обсуждения полученных результатов, выводов, списка сокращений и списка литературы. Список литературы включает 212 источников: 15 отечественных и 197 зарубежных. Текст иллюстрирован 14 рисунками и 11 таблицами.

Во введении автором обоснована актуальность проблемы, поставлена цель и определены задачи исследования. Так же выделена научная новизна, теоретическая и практическая значимость проведенного исследования,

методы и методология исследования. Обоснована достоверность полученных результатов, которая не вызывает сомнений. «Положения, выносимые на защиту» отражают конкретные достижения проведенного исследования. Указаны представленные доклады на конференциях по теме диссертации.

В главе «Обзор литературы» кратко представлены последние достижения в области противоопухолевой вакцинотерапии, при этом сделан акцент на применении пептидных противоопухолевых вакцин и отмечено, что отсутствие значимой эффективности является, в первую очередь, следствием того, что на опухоли обнаруживаются лишь опухоль-ассоциированные, а не специфические антигены. Подробно описаны адъюванты различных их типы и роли в системе доставки антигенов. В логике темы диссертации рассматривается клиническое применение адъювантов в составе противоопухолевых вакцин. В заключение обзора литературы автор указывает на необходимость определения безопасного и клинически эффективного адъюванта при разработке синтетических пептидных неоантигенных вакцин.

В главе «Материалы и методы» автором в полной мере представлены исследуемые в работе адъюванты, пептиды и схемы вакцинации животных. Подробно описаны методики получения сыворотки крови мышей и подготовки клеток селезенки для исследований, культивирования клеток меланомы *in vitro* и перевивки их мышам *in vivo*, приведены методы оценки иммуногенности: ELISpot, оценки фенотипа клеток селезенки мышей с использованием проточной цитометрии. Для оценки результатов использованы соответствующие статистические методы, непараметрический критерий Манна-Уитни.

В главе «Результаты» автор последовательно представляет результаты проведенных исследований в нескольких подразделах:

На первом этапе работы была проведена оценка иммуногенности адъювантов Фрейнда, Poly(I:C) и Ридостина Про по их влиянию на продукцию IFN- γ спленоцитами мышей. По результатам этого этапа для

дальнейшего изучения в составе пептидных вакцин были выбраны адьюванты Poly(I:C) и Ридостин Про, показавшие наилучшие результаты. В исследовании применялись две вакцинные модели с пептидами из групп 1 и 2. Было продемонстрировано, что Ридостин Про обеспечивает более выраженное усиление иммунного ответа на пептиды по сравнению с Poly(I:C) в обеих моделях.

При оценке иммуногенности вакцин, содержащих пептид TRP2 или овальбумин, установлено, что оба адьюванта — Ридостин Про и Poly(I:C) — одинаково способствуют усилению иммунного ответа на данные антигены.

Для изучения цитокиновой активности адьювантов измеряли концентрации в сыворотке IL-12p70, TNF, IFN- γ , MCP-1, IL-10 и IL-6. Ридостин Про проявил более сильное стимулирующее действие по сравнению с Poly(I:C). Последующим этапом стала оценка влияния адьювантов на иммунофенотип клеток иммунной системы, где было выявлено сходное влияние на популяции наивных и памяти Т-клеток, однако Ридостин Про демонстрировал более выраженное увеличение количества CD69+ CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов.

Противоопухолевая активность вакцин с пептидом TRP2 против меланомы B16-F10 и с овальбумином против лимфомы EG7-OVA оценивалась в смешанном (профилактическом/терапевтическом) и исключительно терапевтическом режимах, учитывая показатели замедления роста опухолей и выживаемости животных.

Интересным оказалось предварительное исследование, показавшее способность адьювантов Ридостин Про и Poly(I:C) замедлять рост опухоли даже без включения пептидов. В дальнейшем вакцинация адьювантами совместно с TRP2 или овальбумином вызвала значимый протективный эффект в смешанном режиме, а терапевтическая вакцинация приводила к статистически значимому торможению опухолевого роста.

Таким образом, полученные данные подтверждают перспективность адьювантов Ридостин Про и Poly(I:C) для использования в составе

неоантигенных пептидных противоопухолевых вакцин, способных повысить их иммуногенность, а также профилактическую и терапевтическую эффективность.

В главе «Заключение» автор представляет ключевые аспекты своего исследования, подробно обсуждает собственные данные, сопоставляя их с данными литературы, проводит анализ полученных результатов с точки зрения иммуногенности и противоопухолевой эффективности изучаемых адъювантов в моделях пептидных противоопухолевых вакцин, и их влияния на иммунологические показатели.

Выводы четко сформулированы и логично вытекают из результатов собственных исследований автора и полностью отражают суть поставленных задач.

Заключение

Диссертационная работа Царапаева Павла Валерьевича «Адъювант для усиления эффективности пептидной противоопухолевой вакцины» является завершённой, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи - выбор перспективного адъюванта для создания эффективных противоопухолевых вакцин, имеющей важное значение для развития онкоиммунологии. По актуальности, объёму проведенных исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Царапаева Павла Валерьевича соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786, от 25 января 2024 г. №62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени

кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Ведущий научный сотрудник отдела современных биоматериалов
института регенеративной медицины

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет),

доктор биологических наук

Уласов Илья Валентинович

«08» 09 2025 г.

Подпись д.б.н. Уласова И.В. заверяю.

Ученый секретарь

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет),

доктор медицинских наук, профессор



Воскресенская Ольга Николаевна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел. +7(495)6091400

<https://www.sechenov.ru/>

E-mail: site@sechenov.ru