

«УТВЕРЖДАЮ»

ректор ФГБОУ ВО «Бурятская  
государственная

сельскохозяйственная

академия имени В.Р. Филиппова»

доцент  Б.Б. Цыбиков

« 14 »  2023 г



### ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Бурятская государственная академия им. В.Р. Филиппова» на диссертационную работу Солдатова Дмитрия Алексеевича «Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний», представленную в диссертационный совет 35.2.035.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

**Актуальность темы.** Применение биотехнологий революционизирует диагностику и лечение рака, также в значительной степени улучшает прогноз. Ранняя диагностика играют все более важную роль в разработке более точных целевых методов лечения большинства опухолей. Благодаря открытию новых генетических и эпигенетических биомаркеров, происходит разработка более чувствительных биосенсоров для раннего выявления рака, визуализации и нацеливания опухолей.

Опухолью (Neoplasma) или новообразованием, называют патологическое состояние тканей, при котором разрастающиеся клетки получают стимул для своего роста в месте локализации неопластического процесса. Опухоль возникает самостоятельно, без видимых причин, под

влиянием изменений функционального состояния центральной нервной системы и биологических свойств клеток организма и обладает способностью неограниченно расти в продолжение всей жизни животного.

В настоящее время успешно разрабатываются иммунобиологические методы диагностики опухолей. Связано это с тем, что опухолевые клетки содержат несвойственные нормальным клеткам компоненты, отдельные продукты которых могут поступать в жидкие среды организма. Эти компоненты клеток злокачественных опухолей называют маркерами опухолевых клеток. Они представляют собой макромолекулы, которые можно обнаружить внутриклеточно, на поверхности клеток и в жидких средах организма. Избыточное образование опухолевыми клетками макромолекул и поступление их в жидкие среды организма позволяют выявить их лабораторными методами, что открывает новые перспективы в диагностике опухолей. Связанные с опухолью антигены были обнаружены у большинства опухолей, подтверждена их способность индуцировать иммунные реакции (иммуногенность). Указанные антигены сходны с веществами, которые обнаруживаются в период эмбриональной дифференцировки или идентичны им. К опухолевым маркерам относится большая группа факторов, концентрация которых в сыворотке зависит от степени и стадии развития злокачественного процесса. Они представляют собой макромолекулы, в основном белки с углеводным или липидным компонентом. Они формируются внутри или на поверхности злокачественно трансформированных клеток или индуктивно образуются в обычных клетках. Речь может идти об антигенах, локализованных на поверхности мембран, метаболических ферментах или фрагментах цитоплазматических структур, которые освобождаются при гибели клеток. Часть онкомаркеров секретируется в кровь, благодаря чему их концентрацию можно определить с помощью иммуноферментного анализа.

Одними из таких маркеров могут быть использованы белки теплового шока (HSP). В клетках млекопитающих экспрессируется

несколько семейств белков теплового шока. HSP являются высококонсервативными белками, необходимыми для жизнеспособности клеток. HSP функционируют как шапероны и участвуют в свертывании, сборке и разборке белковых комплексов; они также помогают в транслокации белков между клеточными компартментами. Кроме того, было показано, что определенные HSP играют важную роль в индукции как врожденного, так и адаптивного иммунитета.

Среди различных органических и неорганических наночастиц наночастицы золота обладают уникальными оптическими свойствами и свойствами поверхностного плазмонного резонанса, благодаря которым они стали предпочтительным выбором для исследователей, особенно в области биологии и фармацевтики. Так наночастицы золота можно синтезировать с ядрами самых разных размеров (от 1 до 150 нм), что упрощает контроль их дисперсии. Наличие отрицательного заряда на поверхности наночастиц золота делает их легко модифицируемыми. Это означает, что они могут быть легко функционализированы путем добавления различных биомолекул, таких как лекарства, нацеленные лиганды и гены. Кроме того, биосовместимость и нетоксичный характер наночастиц золота делает их отличным кандидатом для использования в качестве носителей лекарств.

Актуальной задачей ветеринарной науки в настоящее время является поиск и разработка способов ранней диагностики и профилактики онкологических заболеваний у животных.

Поэтому работа Солдатова Д.А., посвященная изучению белков теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний, является актуальной для ветеринарной науки и практики.

**Новизна исследований и достоверность полученных результатов.** Диссертантом были изучены конъюгаты белков теплового шока с наночастицами золота и впервые применены для профилактики и диагностики неопластических процессов у животных. Впервые в

ветеринарной практике применялись миниантитела для диагностики циркулирующих белков теплового шока в организме животных. Кроме того, получены экспериментальные данные о конъюгации наночастиц золота с белками теплового шока. Выше сказанное позволяет рекомендовать и применять в ветеринарной практике полученные знания.

Работа выполнена с применением современных методик и оборудования с последующим анализом всех ее аспектов, в том числе статистической обработкой, что дает возможность признать полученные автором результаты и выводы достоверными.

#### **Теоретическая и практическая значимость диссертации.**

Полученные в ходе исследования результаты показывают, что белки теплового шока с наночастицами золота могут применяться для диагностики онкологических заболеваний у животных, могут служить как маркер для пациентов с ремиссией и как средство для профилактики неопластических процессов. Результаты работы Солдатова Д.А. внедрены в деятельность ветеринарных клиник, что говорит о практической ценности исследования.

**Апробация работы.** Результаты диссертационных исследований доложены и обсуждены: на межвузовской научной студенческой конференции по морфологии и физиологии (Саратов, 2020); Национальной научно-практической студенческой конференции «Актуальные вопросы морфологии, физиологии патоморфологии», посвященной 90-летию Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора ветеринарных наук, профессора, Почетного работника ВПО РФ Демкина Григория Прокофьевича (Саратов, 2021); Конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы год (Саратов, 2021); Международной научно-практической конференции «Современные научные тенденции в ветеринарии» (Саратов, 2022); I этап Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по Приволжскому Федеральному

округу в номинации «Биологические науки» (Саратов, 2021); II этап Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по Приволжскому Федеральному округу в номинации «Биологические науки» (Казань, 2021); Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича (Саратов, 2021); Международной конференции «Современные проблемы ветеринарной фармации и патологии животных» (Саратов, 2022); На конференции профессорского-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2022 год, посвященной 110-летию Вавиловского университета (Саратов, 2023).

Основные положения диссертации изложены в 11 научных работах, в том числе 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК, получен патент РФ на изобретение, 3 – в изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и практических предложений, сформулированных в диссертации.** Диссертационная работа Солдатова Д.А. имеет несомненное значение для науки и практики. Научные положения, выводы и представленные рекомендации являются результатом тщательного анализа достаточного объема как теоретического, так и экспериментального материала, полученного автором в процессе проведения научных исследований. Они хорошо обоснованы и аргументированы.

**Оценка содержания диссертации.** Диссертация Солдатова Дмитрия Алексеевича написана по общепринятой схеме, изложена на 122 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 1 таблицей и 29 рисунками. Состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, собственных

---

исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, практических предложений, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, списка сокращений и приложений. Список литературы включает в себя 274 источника, из них 263 – иностранных.

В разделе «Введение» (стр. 3-11) обосновывается актуальность темы, формируется цель и задачи исследования, подчеркивается новизна, значение работы в практике, указываются места, где работа была выполнена, количество публикаций по теме диссертации, определяются основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы (стр. 12-35) посвящен белкам теплового шока и их функциям в организме млекопитающих, применению белков теплового шока в качестве онкомаркеров. Далее соискатель обзревает использование наночастиц золота в качестве адъювантов для противоопухолевых вакцин и применение их в диагностических целях.

В разделе «Методология, материалы и методы исследования» (стр. 36-77) проведено описание объектов, материалов и методов исследований и схемы проведенных экспериментов. При выполнении экспериментов были применены актуальные методики, которые адекватны задачам диссертации.

В разделе Собственных исследований «Выделение HSP из клеточной линии МН22а» (стр. 50-51) представлены сведения о получении белков теплового шока из онкологической линии клеток гепатомы мышинной.

В разделе Собственных исследований «Получение конъюгатов золотых наночастиц с HSP и их характеристика» (стр. 52-55) представлены сведения о конъюгации наночастиц золота и белков теплового шока с последующим их изучением.

Раздел Собственных исследований «Оценка иммунологических свойств конъюгатов наночастиц золота и HSP на лабораторных животных» (стр. 55-59) содержит данные об изучении иммунологических свойств, полученных конъюгатов, на лабораторных животных. Приводятся данные о дыхательной активности перитонеальных макрофагов, а также концентрация ИЛ1, ИЛ6,

интерферона гамма в сыворотки крови лабораторных животных в результате иммунизации.

В разделе Собственных исследований «Изучение онкопротекторных свойств конъюгата белков теплового шока с наночастицами золота» (стр. 59-66) отражены данные по изучению влияния конъюгатов наночастиц золота с белками теплового шока на рост и способность к перевиваемости клеток линии МН22а.

Раздел Собственных исследований «Выделение HSP из клеточных линий рака молочной железы кошек и их характеристика» (стр. 66-71) показывает, что автором проводилось выделение и культивирование аденокарциномы молочной железы, которая была отобрана от онкологически больных кошек. После того как клетки стали полностью покрывать поверхность планшета и образовался монослой, осуществлялось выделение белков теплового шока, с последующим их изучением.

Данные раздела Собственных исследований «Изучение биодинамики HSP у кошек» (стр. 71-77) отражают динамику падения белков теплового шока в кровяном русле у животных после удаления опухоли. Так же автор провел селекцию фаговых антител к белкам теплового шока, с последующим изучением их эффективности.

В «Заключении» (стр. 83-84) автор представил анализ результатов собственных исследований, а также привел шесть выводов, которые полностью соответствуют задачам.

«Практические предложения» (стр. 85) состоят из трех пунктов, которые дают рекомендации по применению диссертационных наработок в ветеринарной практике.

В работе изложены «Перспективы дальнейшей разработки темы» (стр. 86).

Также, в диссертации представлены «Список сокращений» (стр. 116), «Список литературы» (стр. 87-114) и «Приложения» (стр. 117-122).

Проведенный анализ диссертационной работы Солдатова Д.А. позволяет сделать вывод о том, что работа является целостной и завершённой.

**Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации.** Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы Солдатова Д.А. и целиком отражает суть проведенных исследований и их анализ.

**Рекомендации по использованию основных результатов диссертации.** В ходе проведения научной работы Солдатовым Д.А. получены результаты, которые могут быть использованы в ветеринарной практике при диагностике, профилактике и лечении онкологических заболеваний у мелких непродуктивных животных. Полученная информация может использоваться для изготовления тест систем с целью диагностики новообразований на ранних стадиях у животных. Материалы исследования можно внедрять в подготовительные курсы для обучения молодых кадров в сфере ветеринарной онкологии в образовательных организациях высшего и среднего профессионального образования.

**Вопросы и замечания по диссертации.** В целом представленная диссертационная работа представляет собой завершённый научный труд. По структуре, содержанию и стилю изложения, глубине научных исследований работа соответствует уровню кандидатской диссертации. Диссертационная работа Солдатова Дмитрия Алексеевича наряду с перечисленными достоинствами имеет некоторые недостатки:

1. В диссертации встречаются громоздкие предложения и сложные обороты, которые ухудшают восприятие работы. Так же в некоторых случаях встречаются часто повторяющиеся слова, которые можно было бы заменить синонимами.

2. Было замечено наличие однотипных рисунков, выполненных не в одной стилистике. Например, диаграммы 7, 9, 12 имеют разные размеры и цвета, что влияет на целостность картины.



Отмеченные выше замечания, не снижают качество диссертации, они носят дискуссионный характер в виде предложений по улучшению в дальнейших исследованиях.

При изучении работы у нас возникли вопросы, на которые необходимо получить ответы во время дискуссии на защите.

1. В списке литературы количество зарубежных авторов намного превышает количество отечественных, с чем связана подобная проблема?

2. В разделе Собственных исследований «Изучение онкопротекторных свойств конъюгата белков теплового шока с наночастицами золота» видно, что группа, иммунизированная Ag+HЧЗ+ПАФ обладает самым высоким титром антител, но при этом гепатома не выросла только у группы, иммунизированной Ag+HЧЗ?

3. Получилось бы конъюгировать белки теплового шока с другими видами наночастиц?

4. Будут ли идентифицироваться белки теплового шока в сыворотке крови у животных, которые перенесли операцию по удалению новообразования молочной железы?

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**


Диссертационная работа Солдатова Дмитрия Алексеевича на тему: «Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний» является завершённой научно-квалификационной работой, которая была выполнена самостоятельно автором. Данная работа выполнена на достаточно высоком уровне научного анализа, с применением современных методов исследования. Полученные результаты исследований могут применяться в ветеринарной онкологии и дальнейших научных исследованиях, для создания противоопухолевой вакцины.

Диссертационная работа Солдатова Д.А. в полной мере соответствует паспорту специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология и требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, а ее автор

Солдатов Дмитрий Алексеевич заслуживает присуждения учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Отзыв на диссертационную работу рассмотрен и одобрен на расширенном заседании кафедр «ВСЭ, микробиологии и патоморфологии» и «Анатомия, физиологии, фармакология», протокол № 5 от 10 ноября 2023 года.

Отзыв составил  
Доцент кафедры «ВСЭ,  
микробиология и патоморфология»  
ФГБОУ ВО «Бурятская ГСХА  
им. В.Р. Филиппова»,  
доктор ветеринарных наук (06.02.01)

 Ханхасыков Сергей  
Павлович

Заведующий кафедрой ВСЭ,  
микробиологии и патоморфологии,  
ФГБОУ ВО  
«Бурятская ГСХА имени В.Р.  
Филиппова»,  
кандидат ветеринарных наук, доцент

 Алексеева Саяна  
Мункуевна

Заведующий кафедрой Анатомия,  
физиология, фармакология ФГБОУ  
ВО «Бурятская ГСХА имени В.Р.  
Филиппова»,  
кандидат ветеринарных наук, доцент

 Токарь Виктория  
Владимировна

Подпись Сергея Павловича Ханхасыкова, Саяны Мункуевны Алексеевой,  
Виктории Владимировны Токарь заверяю



Сведения о ведущей организации:  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Бурятская государственная академия им. В.Р.  
Филиппова»  
670010, Россия, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Пушкина, 8  
Тел.: (301-2) 44-26-11 [bgsha@bgsha.ru](mailto:bgsha@bgsha.ru)