



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
www.niikim.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. директора Федерального
государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»,
доктор биологических наук




А.Н. Силков

« 23 » *сентября* 2026г

ОТЗЫВ

о научно-практической значимости диссертационной работы Ушаковой Екатерины Игоревны «Экспериментальная иммунотерапия злокачественного новообразования путем перепрограммирования миелоидных клеток в модели метастатической карциномы у лабораторных мышей» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Актуальность темы диссертационной работы

Разработка подходов к иммунотерапии злокачественных опухолей, а также обеспечение длительного клинического эффекта на сегодняшний день остаются чрезвычайно актуальной проблемой. При этом исследование механизмов противоопухолевого иммунитета при метастатических формах является одной из важных задач для достижения терапевтического эффекта. Использование уникальных экспериментальных моделей, отражающих динамику ответа на терапию – от первичного ответа до последующего прогрессирования/метастазирования опухоли – могло бы способствовать более четкому пониманию механизмов резистентности и ее преодоления при

злокачественных опухолях. В свою очередь, одна из существенных задач в повышении эффективности разрабатываемых методов лечения связана с ключевой ролью иммуносупрессивного опухолевого микроокружения в модуляции противоопухолевого иммунного ответа. Миелоидные клетки, включая моноциты, дендритные клетки, опухоль-ассоциированные макрофаги, супрессорные клетки миелоидного происхождения и нейтрофилы, составляют значимую часть опухолевого микроокружения, в условиях воздействия иммуносупрессорных факторов могут подавлять противоопухолевые реакции и способствовать прогрессированию опухоли. Кроме того, показано, что различные популяции миелоидных клеток могут быть как мишенями в иммунотерапии опухолей, так и прогностическими биомаркерами ответа на проводимую терапию. Соответственно, подходы, направленные на изменение свойств миелоидных клеток в опухолевом микроокружении и их поляризацию в сторону провоспалительного/противоопухолевого функционального фенотипа, являются ключевым аспектом для достижения эффективного ответа на иммунотерапию.

С точки зрения обозначенных вопросов диссертационная работа Ушаковой Е.И., посвященная изучению механизмов противоопухолевого действия и оценке эффективности экспериментальной иммунотерапии метастатической карциномы, основанной на изменении свойств миелоидных клеток, является актуальной с точки зрения фундаментальных аспектов, а также имеет решающее значение для оптимизации подходов иммунотерапии злокачественных опухолей.

Соответствие темы диссертации указанной специальности

Диссертация соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (направления исследований: №2; №3; №6).

Основные результаты диссертационной работы

Диссертационная работа Ушаковой Е.И. представляет собой экспериментальное исследование, посвящённое изучению противоопухолевой активности миелоидных клеток и оценке эффективности иммунотерапии в модели метастатической карциномы 4Т1.

Автором разработана и валидирована воспроизводимая модель метастатического рака молочной железы, включающая иммунотерапию, направленную на усиление противоопухолевой активности миелоидных клеток после хирургического удаления первичной опухоли. Оптимизировано использование агонистов TLR-3 и TLR-4 в режиме монотерапии, а также в виде комбинации.

Установлено, что применение агонистов TLR-3 и -4 обеспечивает выраженный терапевтический эффект у мышей в послеоперационном периоде. В случае введения агонистов TLR-4 полное излечение достигается у 25% животных, агонистов TLR-3 – у 30%, при комбинированном применении – у 50% с элиминацией или значительным снижением метастазов в лёгких.

Показано, что в основе противоопухолевого действия указанных агонистов лежит усиление прямого цитотоксического действия дендритных клеток и макрофагов против клеток карциномы, что обеспечивает эффективное уничтожение остаточных и метастазированных опухолевых клеток. Доказано, что данный процесс сопровождается активацией адаптивного иммунитета с формированием эффекторных и Т-клеток памяти, продукцией IFN- γ и опухолеспецифических IgG-антител, что свидетельствует о развитии интегрального противоопухолевого ответа.

Установлено, что на фоне применения агонистов TLR-3 и -4 происходит формирование долговременной иммунной памяти, проявляющейся подавлением роста повторно инокулированной опухоли и сохранением противоопухолевого фенотипа миелоидных клеток.

Таким образом, в работе Ушаковой Е.И. обоснована высокая эффективность экспериментального иммунотерапевтического подхода с использованием агонистов TLR, способствующего усилению противоопухолевых свойств миелоидных клеток и обеспечивающего контроль метастатического процесса и формирование стойкого противоопухолевого иммунитета.

Достоверность полученных результатов

Выполненные Ушаковой Е.И. исследования были проведены с использованием современных объективных методов исследования на сертифицированном оборудовании. Достоверность всех научных положений доказана с использованием современных экспериментальных методов, полученные данные статистически обработаны с использованием значимых критериев достоверности. Объем проведенных исследований соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Выводы основаны на полученных результатах, соответствуют задачам и положениям диссертации.

Научная новизна диссертационной работы

В диссертационной работе получены новые данные о механизмах противоопухолевого иммунного ответа при метастатической карциноме молочной железы в условиях иммунотерапии, основанной на активации миелоидных клеток агонистами TLR-4 и -4 после хирургического удаления первичной опухоли.

Впервые показано, что применение агонистов TLR-3 и -4 в послеоперационном периоде обеспечивает активацию врождённого и адаптивного иммунитета, сопровождающуюся увеличением выживаемости животных. Установлено вовлечение CD4⁺- и CD8⁺-Т-лимфоцитов в реализацию противоопухолевого эффекта. Высокой научной новизной характеризуются результаты исследования стимулирующего влияния агонистов TLR-3 и TLR-4 в послеоперационном периоде на цитотоксическую активность макрофагов и дендритных клеток мышей-опухоленосителей метастатической карциномы 4T1, определяя ключевую роль миелоидных клеток в элиминации опухоли. Впервые продемонстрировано формирование долговременной противоопухолевой иммунной памяти, включающей Т- и В-клеточные механизмы у мышей с метастатической карциномой 4T1 при терапии. Сформулированные автором диссертации выводы обосновывают научную основу для разработки новых подходов в иммунотерапии метастатических вариантов опухолей.

Теоретическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость диссертационного исследования Ушаковой Е.И. не вызывает сомнений. Результаты работы расширяют представления о механизмах противоопухолевого иммунного ответа. Показано, что активация рецепторов TLR-3 и -4 индуцирует формирование эффекторных Т-лимфоцитов и продукцию опухолеспецифических IgG-антител в модели метастатической карциномой 4Т1. Установлено, что миелоидные клетки при воздействии агонистов TLR-3 и -4 приобретают свойства цитотоксических эффекторных клеток, сохраняющих противоопухолевый фенотип (с высокой экспрессией генов *Nos2*, *Il1b*, *Tnf*) и обеспечивающих контроль метастатических очагов. Теоретическую ценность представляют данные о возможности TLR-3 и -4-опосредованной индукции долговременной иммунной памяти через воздействие на миелоидные клетки.

Научно-практическая значимость диссертационной работы

Диссертационная работа Ушаковой Е.И. обладает высокой научной и практической ценностью, вносит существенный вклад в развитие онкоиммунологии и формирует научную основу для разработки принципиально новых подходов к лечению метастатических опухолей, основанных на целенаправленном воздействии на клетки врождённого иммунитета и модификации опухолевого микроокружения.

С точки зрения научной значимости впервые показано, что применение агонистов TLR-3 и -4 после хирургического удаления первичной опухоли обеспечивает выраженную активацию врождённого и адаптивного иммунитета и формирование системного противоопухолевого ответа, направленного на подавление метастазирования.

Одним из наиболее значимых результатов работы является экспериментальное обоснование нового подхода к терапии метастатических опухолей, предусматривающего применение агонистов TLR-3 и -4 в послеоперационном периоде. Показано, что данный подход обеспечивает достоверное снижение метастатического поражения лёгких вплоть до полной элиминации очагов и увеличение выживаемости до 50 % животных при исходно

летальном течении заболевания, что свидетельствует о его высокой эффективности и терапевтическом потенциале.

Особое значение имеют результаты, свидетельствующие о формировании долговременной противоопухолевой иммунной памяти. Установлено, что предложенная иммунотерапия обеспечивает устойчивость к повторному опухолевому росту, что указывает на формирование длительного иммунного контроля над опухолевым процессом.

Полученные данные имеют прикладное значение для разработки критериев оценки эффективности иммунотерапии. Обоснована возможность использования иммунологических показателей (количество Т-клеток памяти, продукция IFN- γ , наличие антиген-специфических антител) в качестве прогностических биомаркеров, что создаёт предпосылки для внедрения персонализированных подходов в онкологии.

Разработанная методика количественной оценки антиген-специфических CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток памяти характеризуется высокой чувствительностью и воспроизводимостью и может быть использована в экспериментальных и клинических исследованиях.

Принципиально важным является обоснование возможности трансляции полученных результатов в клиническую практику. Показано, что агонисты TLR-3 и TLR-4 способны стимулировать *in vitro* противоопухолевую активность дендритных клеток человека, что подтверждает перспективность клинического применения разработанного подхода.

Результаты работы формируют научную основу для создания новых лекарственных средств на основе агонистов TLR и обосновывают их применение в составе адьювантной иммунотерапии после хирургического лечения с целью элиминации микрометастазов и профилактики рецидива. Показана универсальность предложенного подхода, обусловленная фундаментальным характером механизмов перепрограммирования миелоидных клеток.

Материалы диссертации могут использоваться в программах обучения студентов медицинским и естественным наукам, а также представляют

несомненный интерес для научных организаций, занимающихся исследованиями в области иммунологии, онкологии и молекулярной биологии.

Таким образом, результаты диссертационной работы имеют высокое научно-практическое значение и обосновывают перспективность клинического внедрения новых иммунотерапевтических стратегий.

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовала во всех этапах выполнения диссертационного исследования: постановке задач и проведении экспериментов, получении исходных данных, разработке экспериментальных моделей и методик, обработке и интерпретации результатов, а также подготовке публикаций по выполненной работе.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Ушаковой Е.И. изложена на 182 страницах машинописного текста и имеет традиционную структуру: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, анализ полученных результатов, их обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложение с актами внедрения результатов. Работа содержит 33 рисунка и 7 таблиц. Библиография включает 179 источников, из них 21 отечественный и 158 зарубежных.

Во введении обоснованы актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования. Обзор литературы представляет систематический анализ современных данных о роли миелоидных клеток в противоопухолевом иммунном ответе и стратегиях их перепрограммирования в опухолевом микроокружении. В главе «Материалы и методы» подробно описаны использованные современные экспериментальные подходы. Особенно впечатляет размерность выборки мышей (более 700 мышей), включенных в исследование. Глава «Результаты» включает детальное описание и характеристику экспериментальной модели метастатической карциномы, оценку противоопухолевого иммунного ответа после хирургической резекции опухоли и введения агонистов TLR-3 и -4, анализ формирования T- и B-клеточной памяти,

изучение цитотоксической активности макрофагов и дендритных клеток в метастатических очагах, а также динамику метастазирования и иммунного микроокружения с количественной оценкой эффективности терапии. Глава «Обсуждение результатов» посвящена анализу полученных данных, выявлению взаимосвязей между иммунологическими и молекулярно-генетическими показателями и определению ключевых механизмов эффективности терапии.

Выводы обоснованы и четко сформулированы, в полной мере отражают результаты исследований, соответствуют поставленным задачам, научно обоснованы, содержат элементы научной новизны и логично вытекают из содержания работы. Заключение включает в себя обсуждение итогов, перспектив, приведены рекомендации.

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и представляет собой объемное, целостное научное исследование.

Материалы диссертации доложены на российских и международных конгрессах и форумах. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 15 печатных работах, из них 7 статей в рецензируемых периодических научных изданиях, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата, 8 публикаций в материалах конгрессов и конференций.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе

В целом, принципиальных замечаний к оформлению диссертации и к качеству представленных результатов нет. Хотелось бы автору на будущее рекомендовать более корректно и осторожно использовать термин «перепрограммирование», поскольку в работе не было показано, что исходно миелоидные клетки обладали иммуносупрессорным фенотипом, который на фоне воздействия изучаемых агонистов изменился в сторону провоспалительного/противоопухолевого фенотипа. В контексте представленной работы мы можем говорить только об усилении противоопухолевых свойств миелоидных клеток. Обращает на себя внимание

использование автором сленговых или упрощенных терминов, от которых в будущем стоит отказаться, применяя в научных работах более корректные определения («патогенное влияние клеток иммунной системы», «производство клетками растворимых ингибиторов», «подмножества клеток», «разгоняют иммуносупрессию», «выстреливающие метастатические клетки» «растворимые иммуносупрессоры»). Описывая протокол получения дендритных клеток из моноцитов человека, автор неопределенно называет сгенерированные культуры клеток «дендритными клетками/макрофагами». Однако стоит отметить, что цитокины GM-CSF и IL-4, используемые в данном протоколе, за счет эпигенетической регуляции направляют дифференцировку прилипающей фракции моноцитов строго в сторону неадгезивных дендритных клеток.

В качестве дискуссии хотелось бы задать автору несколько вопросов.

1. За счет каких механизмов TLR-3 и -4-активированные дендритные клетки и макрофаги мышей и человека лизируют опухолевые клетки, а также с чем связана более выраженная цитотоксическая активность дендритных клеток по сравнению с аналогичной активностью макрофагов при схожих соотношениях клеток-мишеней и клеток-эффекторов?
2. Поскольку полный ответ на терапию агонистами TLR-3 и -4 был зарегистрирован только у части мышей с метастатической карциномой, с какими факторами, по мнению автора, может быть связана выраженность ответа? Проводилось ли сравнение иммунологических показателей у мышей-ответчиков и неответчиков, а также взаимосвязь этих параметров с показателями выживаемости?
3. Были ли различия в динамике роста опухоли и иммунологических показателей у одних и тех же мышей в группе с полным ответом на этапе первичного роста опухоли и на этапе повторного переноса опухолевых клеток после длительной ремиссии/выздоровления?

Заключение

Диссертационная работа Ушаковой Екатерины Игоревны «Экспериментальная иммунотерапия злокачественного новообразования путем перепрограммирования миелоидных клеток в модели метастатической карциномы у лабораторных мышей» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология (биологические науки) является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для иммунологии: выявлены новые данные о влиянии агонистов TLR на тканевые макрофаги и дендритные клетки, которое заключается в приобретении указанными клетками выраженной противоопухолевую цитотоксической активности в отношении метастатических клеток карциномы 4Т1; изучены особенности формирования долговременной иммунной памяти, специфичной к антигенам опухоли в модели рецидива злокачественного новообразования; доказана перспективность использования активации макрофагов и дендритных клеток агонистами TLR после хирургической резекции опухоли для лечения метастатической карциномы 4Т1 у мышей, обеспечивающая выживаемость 50 % мышей.

Диссертационная работа Ушаковой Е.И. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки).

Ведущая организация подтверждает, что Ушакова Е.И. не является ее сотрудником и не имеет научных работ, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на расширенном заседании лабораторий клеточной иммунотерапии, клеточно-молекулярных механизмов иммунопатологии, клинической иммунопатологии и молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-

исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»
(протокол № 6 от 23 апреля 2026 г).

Заведующий лабораторией
клеточно-молекулярных механизмов
иммунопатологии,
ведущий научный сотрудник
лаборатории клеточной
иммунотерапии НИИФКИ,
доктор биологических наук,
«23» апреля 2026г.

Тамара Викторовна Тыринова

Подпись Т.В. Тыриновой заверяю:
Учёный секретарь НИИФКИ, к.б.н.
«23» апреля 2026 г.

Елена Давидовна Гаврилова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Адрес: 630099, Новосибирская обл., г. Новосибирск, ул. Ядринцевская., дом 14, тел. +7(383) 222-26-74, официальный сайт: www.niikim.ru, e-mail: info@niikim.ru