

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.002.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от «27» мая 2026 г. № 06/2026

О присуждении Ушаковой Екатерине Игоревне, гражданство РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экспериментальная иммунотерапия злокачественного новообразования путем перепрограммирования миелоидных клеток в модели метастатической карциномы у лабораторных мышей» по специальности «3.2.7. Иммунология» принята к защите 25.03.2026 г. (протокол заседания №04/2026) диссертационным советом 68.1.002.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России), по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24; приказ о создании диссертационного совета №206/нк от 14.02.2023 г.

Соискатель Ушакова Екатерина Игоревна, 12 августа 1995 года рождения, в 2019 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова), биологический факультет, кафедру иммунологии, магистратуру по специальности «06.04.01 Биология». В 2023 году освоила программу подготовки научных и научно-педагогических кадров аспирантуры кафедры иммунологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности «3.2.7. Иммунология».

Работает в должности научного сотрудника в лаборатории активации иммунитета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Диссертация выполнена в лаборатории активации иммунитета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Атауллаханов Равшан Иноятович, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, отдел иммунной биотехнологии, заведующий отделом.

Официальные оппоненты:

Анисимова Наталья Юрьевна – доктор биологических наук, Научно-исследовательский институт экспериментальной онкологии и канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина», Министерство здравоохранения Российской Федерации, лаборатория клеточного иммунитета и биотехнологий, ведущий научный сотрудник;

Кармакова Татьяна Анатольевна – доктор биологических наук, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии», Министерство здравоохранения Российской Федерации, отделение прогноза эффективности консервативного лечения, ведущий научный сотрудник,

– дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Новосибирск, в своем положительном отзыве, подписанном Тыриновой Тамарой Викторовной, доктором биологических наук, заведующим лабораторией клеточно-молекулярных механизмов иммунопатологии, ведущим научным сотрудником лаборатории клеточной иммунотерапии, и утвержденном Силковым Александром Николаевичем, доктором биологических наук, и. о. директора, указала, что: «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 4T1; 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 4T1 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)».

Соискатель имеет 20 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 15 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 работ общим объемом 93 страницы (11,6 печатных листов). Статьи опубликованы в рецензируемом научном издании «Иммунология». В диссертации и автореферате отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Авторский вклад составляет 82 %.

Основные работы:

1. Ушакова Е.И. Комбинированная иммунотерапия метастатической карциномы у лабораторных мышей путем резекции первичного опухолевого узла и последующего перепрограммирования макрофагов и дендритных клеток с помощью агониста TLR4 / Е.И. Ушакова, Е.С. Лебедева, А.В. Багаев, А.В. Пичугин, Р.И. Атауллаханов. – Текст: непосредственный // Иммунология. – 2021. – Т. 42. – №5. – С. 490–501. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-5-490-501

2. Ушакова Е.И. Интенсивность противоопухолевых иммунных реакций на иммунизацию вакцинами Multivac против карциномы 4Т1 у мышей BALB/с и меланомы В16 у мышей С57BL/6J не зависит от генотипа «хозяина» и тканевой природы опухоли / Е.И. Ушакова, А.В. Пичугин, А.А. Федорова, Е.С. Лебедева, Р.И. Атауллаханов. – Текст: непосредственный // Иммунология. – 2022. – Т. 43. - №6. - С. 691–701. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-6-691-701

На автореферат диссертации поступили отзывы из Федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, г. Москва, отзыв составлен доктором медицинских наук, профессором Казаковым Сергеем Петровичем; из Федерального государственного учреждения «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, г. Москва, отзыв составлен кандидатом фармацевтических наук, доцентом Гегечкори Владимиром Ираклиевичем; из Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, отзыв составлен кандидатом биологических наук Смирновой Анной Вячеславовной.

Отзывы положительные, замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области исследований, представленных в диссертационной работе, и отсутствием совместных работ и договорных обязательств с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана новая научная идея, расширяющая представления о роли перепрограммирования миелоидных клеток агонистами TLR в реактивации противоопухолевых Т- и В-клеточных иммунных реакций;

- предложена оригинальная научная гипотеза о перепрограммировании тканевых макрофагов и дендритных клеток с приобретением ими прямого цитотоксического действия в органах-мишенях метастазирования;

- доказана перспективность использования комбинации агонистов TLR3 и TLR4 для индукции опухоль-специфических IgG-антител у мышей со злокачественной карциномой 4Т1;

- введен эффективный экспериментальный подход комбинированного лечения злокачественной карциномы 4Т1, обеспечивающий выживаемость 50% мышей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказана способность агонистов TLR3 и TLR4 индуцировать формирование долговременной иммунной памяти на антигены опухоли в дренирующих лимфатических узлах и в селезенке;

- применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс существующих базовых методов исследования для анализа цитотоксических свойств CD8-Т-клеток и миелоидных клеток из ткани опухоли и легких в отношении карциномы 4Т1;

- изложены теоретические представления о возможном участии CD4-Т-клеток, секретирующих ИФН- γ , в формировании противоопухолевого иммунного ответа на антигены карциномы 4Т1 у мышей, получавших лечение агонистами TLR при индукции рецидива злокачественной опухоли;

- раскрыты фенотипические и функциональные особенности тканевых макрофагов и дендритных клеток, проявляющих цитотоксическую активность в отношении клеток карциномы 4Т1, уточняющие существующие представления об их роли в микроокружении органов-мишенях метастазирования;

– изучены особенности и закономерности перестройки клеточного состава иммунного микроокружения органов-мишеней метастазирования при индукции рецидива злокачественной опухоли в условиях противоопухолевой терапии;

– проведена модернизация экспериментальных моделей для изучения противоопухолевых иммунных реакций, обеспечивающая получение новых данных по роли перепрограммирования миелоидных клеток в ткани опухоли и периферических тканях, а также уточнение подходов к анализу антиген-специфических антител на основе оценки их связывания с поверхностными антигенами клеток 4Т1.

Значение полученных результатов для практики подтверждается тем, что:

– разработана и внедрена в лабораторную практику методика оценки противоопухолевого иммунного ответа, адаптированная для исследования Т-клеток-эффекторов и Т-клеток памяти;

– определены перспективы использования экспериментальной иммунотерапии путем перепрограммирования миелоидных после хирургического удаления опухоли для лечения злокачественной метастатической карциномы 4Т1 у мышей BALB/c;

– создана система практических рекомендаций для активации перепрограммирования макрофагов и дендритных клеток для индукции эффективного противоопухолевого Т- и В-клеточного иммунного ответа;

– представлены рекомендации по использованию агонистов TLR для активации моноцитарных макрофагов и дендритных клеток человека с целью превращения их в эффективные противоопухолевые клетки с цитотоксической активностью.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

– результаты получены на сертифицированном и откалиброванном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизованным методикам, показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях;

– теория построена на известных, проверяемых фактах и согласуется с общепринятыми представлениями о миелоидных клетках и противоопухолевом иммунном ответе;

– идея базируется на обобщении передового опыта автора и других исследователей по рассматриваемой тематике, как отечественных, так и зарубежных исследований;

– использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике, как отечественных, так и зарубежных исследований;

– установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

– использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, а также адекватные статистические методы исследования.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования: постановке и проведении экспериментов, получении исходных данных, разработке экспериментальных моделей и методик, обработке и интерпретации результатов, а также подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы, на которые соискатель Ушакова Е.И. ответила и привела собственную аргументацию.

Вопрос. Вы использовали агонисты TLR3, TLR4. Какие это были агонисты? Они широко применяются или это что-то ваше оригинальное?

Ответ. В качестве агониста TLR4-рецептора использовали Иммуномакс, представляющий собой полисахарид. В качестве агониста TLR3-рецептора, использовали Poly (I:C), представляющий собой кополимер полиинозиновой и полицитидиловой кислот, синтетический аналог двухцепочечной РНК.

Вопрос. Кто они такие по себе? Иммуномакс — это что такое? Он применяется на человеке?

Ответ. Оба препарата, оба агониста TLR3- и TLR4-рецептора, Иммуномакс и Poly I:C, соответственно, используются. Иммуномакс — это

фармакологический препарат, который уже 25 лет на рынке и используется в медицине при различных патологиях. Poly I:C — тоже известный аналог двуцепочечной РНК, он тоже используется в экспериментальных иммунологических исследованиях. В клинической практике его не используют, используют аналог Poly I:C— это PolyICLC. Но опять же, тоже не для клинического применения, он используется в рамках экспериментальных протоколов.

Вопрос. Скажите, пожалуйста, а на другие виды опухолей вот эти клетки не действовали? Вы не смотрели? Может быть, это неспецифическое такое действие? То есть клетки стимулированы вот этими агонистами, да, перепрограммированы, они действуют на другие опухоли, на другие виды опухолей или вы не смотрели?

Ответ. В диссертационной работе этого не показано, но мы использовали нашу экспериментальную иммунотерапию для лечения других типов злокачественных новообразований, в том числе меланомы B16 и гепатоцеллюлярной карциномы. Показывают успешные результаты. Да, также опухоли уменьшаются.

Вопрос. Это просто стимуляция?

Ответ. Да, это стимуляция врождённых клеток иммунитета.

Вопрос. Резекцию опухоли выполняли на одиннадцатые сутки. Почему выбрали именно одиннадцатые сутки? Какой был размер опухоли и как это можно соотнести с человеком?

Ответ. На одиннадцатые сутки была проведена резекция опухоли. Она была проведена, когда опухоль достигала порядка трёх-четырёх миллиметров. Этот день также был выбран из-за того, что мы визуально видим рост опухоли, и также, мы проверили что опухоль метастазируют и обнаруживаются метастазы в других органах и тканях. То есть важно было доказать и понять, работает ли наша экспериментальная терапия не только на первичной опухоли, но и на метастатической болезни, которая вызывает, собственно, первичную опухоль. А

как это соотносится с пациентами - на ваш вопрос трудно ответить, так как я занимаюсь экспериментальной работой.

Вопрос. Первая стадия, вторая стадия. Вторая стадия как раз метастазы.

Ответ. Да, эта модель индуцирует третью и четвертую стадию онкологического процесса.

Вопрос. Подскажите, пожалуйста, представляется ли Вам перспективным использование или комбинирование Вашей или разработанного Вами подхода с, например, ингибиторами контрольных иммунных точек? Может ли это повысить эффективность, вот по крайней мере, на основе Вашей модели?

Ответ. В рамках диссертационного исследования такие результаты не были представлены, но в нашей лаборатории мы исследовали комбинацию чекпойнт-ингибиторов с нашей экспериментальной терапией, и вклад чекпойнтов достаточно небольшой. Если использовать сначала чекпойнт-ингибиторы, то они увеличивают продолжительность жизни. 10 % мышей выздоравливают от метастатической болезни. При комбинации нашего экспериментального лечения с чекпойнт-ингибиторами добавляется ещё 10%. То есть, вклад чекпойнтов небольшой, но это было апробировано только в модели трижды негативного рака молочной железы карциномы 4T1. Возможно, эффект будет выше, если будем применять другие, применять на других видах злокачественных новообразований.

Вопрос. У меня тоже сложный вопрос про пациентов. Balb/c — это классическая модель, у которой иммунный ответ схож в сторону Th2, а среди типичных когорт раковых пациентов, насколько я понимаю таких чистых случаев Th2 или Th1 меньшинство, большинство смешанное. Как Вам кажется, нужно смотреть на это обстоятельство, что 4T1 — это такая тяжёлая иммуносупрессивная модель, и на пациентах всё должно быть лучше, или же наоборот, что это некий, так сказать, клон выживших при инбридинге мышей, и на пациентов эти данные нужно переносить с осторожностью?

Ответ. На пациентах с осторожностью необходимо переносить результаты всех экспериментальных исследований. Да, Вы правы. Здесь ответ чаще всего

идёт в сторону Th2. Скорее, сначала бы я бы попыталась найти экспериментальную модель, которая бы индуцировала Th1 ответ, и там для начала посмотрела, а потом уже пройти все стадии экспериментальных исследований на приматах, и уже, возможно, после установления безопасности применения этих препаратов уже переходить на клинические исследования. Поэтому тут будут только предположения.

Вопрос. Но с безопасностью Иммуномакса никаких вопросов не должно быть?

Ответ. Да, Вы правы, вопросов никаких нет, не наблюдается нежелательных побочных явлений. На рынке он долго, он продаётся, и то есть это известный агонист TLR4 рецептора, и он готов к клиническим испытаниям в онкологии.

Вопрос. Вопрос касается момента, где вы показывали цитотоксичность CD8-Т-клеток. А можете рассказать, в чем функциональная значимость CD4-Т-клеток, вот которые продуцируют ИФН- γ как раз в ответ на опухоль.

Ответ. Т-хелперы первого типа — это основные дирижеры противоопухолевого иммунитета. ИФН- γ индуцирует поляризацию макрофагов и дендритных клеток в цитотоксическое состояние. Кроме того, он индуцирует секрецию IL-2 для выживания и экспансии Т-клеток. И кроме того, стимулирует переключение изотипа антител на IgG-изотип у мышей.

Вопрос. За счет каких механизмов TLR-3 и TLR-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 макрофагами?

Ответ. Активированные через TLR3 и TLR4 макрофаги и дендритные клетки мышей и человека проявляют цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток преимущественно за счет секреции пероксинитритов, активных форм кислорода, активных форм азота и IFN- β . Это показано было в нашей лаборатории Александром Багаевым. Существенной разницы в

цитотоксической активности дендритных клеток и макрофагов нет. Они проявляют сравнимую противоопухолевую активность.

Вопрос. Поскольку полный ответ на терапию агонистами TLR3 и TLR4 был зарегистрирован только у части мышей с метастатической карциномой, с какими факторами, по мнению автора, может быть связана такая выраженность ответа? Проводилось ли сравнение иммунологических показателей у мышей, ответивших и не ответивших на экспериментальную иммунотерапию?

Ответ. Лечение экспериментальной иммунотерапией в сочетании с резекцией первичной опухоли не давало 100 % эффекта. 50 % мышей выздоравливали полностью, рецидива у них не наблюдалось в течение последующих 8 месяцев, что составляет половину продолжительности их жизни. Происходило увеличение продолжительности жизни в среднем в 2 раза у тех, у кого экспериментальной иммунотерапии не было, но была резекция опухоли. Индивидуальные различия между мышами с тем, что, несмотря на генетическую идентичность, индивидуальные мыши отличаются друг от друга гормональным статусом, уровнем нервных стрессов, связанных с социальной иерархией внутри группы. Достоверно определить различия в иммунных реакциях у ответчиков и неответчиков сложно. Для изучения иммунных реакций надо мышей выводить из эксперимента и тогда возможно узнать, какие эффекторные реакции и какие цитотоксические реакции можно наблюдать у этих мышей. Но в случае продолжительного наблюдения за мышами и оценки их дальнейшей выживаемости нельзя оценить их индивидуальные различия, так как мы их не выводим из эксперимента, соответственно, мы наблюдаем, будут ли они дальше продолжать жить или в какой-то момент погибнут.

Вопрос. Были ли различия в динамике роста опухоли и иммунологических показателей у одних и тех же мышей в группе с полным ответом на терапию на этапе первичного роста опухоли и на этапе повторного переноса опухолевых клеток после длительной ремиссии?

Ответ. У мышей с полным ответом на лечение иммунные реакции на вторично инокулированную опухоль были интенсивными. У 15 % животных

опухоли не появлялись. У части мышей они появлялись и через 10-15 дней исчезли и у большинства оставшихся животных опухоли росли замедленно. Изучение клеточного состава этих медленно растущих опухолей показало обильную инфильтрацию противоопухолевыми Т-клетками-эффекторами, цитотоксическими Т-клетками, подавляющими рост карциномы 4Т1, а также Т-клетками памяти, специфично распознающими антигены опухоли.

Вопрос. Чем обусловлен выбор антитела анти-CD49 для идентификации натуральных киллеров, тогда как обычно для идентификации клеток этой субпопуляции используют антитела против CD16 и CD56? Почему для идентификации Т-регуляторных клеток фенотип которых обычно описывается как CD4⁺CD25⁺ FOXP3-позитивные клетки, автором не был использован как раз FOXP3?

Ответ. Выбор антитела CD49 был обусловлен особенностью использования экспериментальной модели. В исследованиях на мышах обычно используются для идентификации НК-клеток маркер CD49. В то время как человеческие маркеры CD16 и CD56 не являются универсальными для мышинных моделей. Поэтому в экспериментальных моделях на мышах применяли CD49b. Что касается Т-регуляторных клеток, то действительно, наиболее специфическим маркером является транскрипционный фактор FOXP3. Однако в данной работе использовали панели антител для поверхностного связывания маркеров, чтобы затем из суспензии клеток сортировать CD4- и CD8-Т клетки для определения их функциональной активности в отношении опухолевых клеток. Если использовать внутриклеточный маркер FOXP3, то необходимо пермеабиллизировать и фиксировать клетки, соответственно они не живые и для *in vitro* тестов не пригодны. Кроме того, в литературе фенотипически доказано, что популяция Т-регуляторных клеток, выделяемая как CD4⁺CD25^{high}, и популяция, определяемая по внутриклеточному транскрипционному фактору FOXP3, они перекрываются 90–95%. Были публикации группы японских учёных Шимона Сакагучи, которая доказала, что экспрессия гена и белка FOXP3 строго локализована в популяции CD4-положительных с высокой экспрессией CD25.

Вопрос. С какой целью для сбора клеток миелобластного лейкоза линии K562, которые, как известно, являются неадгезивными после того, как они были помечены GFP, автор использовал трипсинизацию? Они приобрели способность к адгезии в результате проведения исследований или здесь наблюдались изменения каких-то их свойств после того, как они были подвергнуты данной обработке?

Ответ. Клетки миелобластного лейкоза K562, действительно, не нуждаются в применении трипсина, потому что они суспензионные. Но при совместном культивировании с миелоидными клетками человека мы хотели собрать не только клетки K562, но и миелоидные клетки, которые прочно адгезируют к пластику. Поэтому использовали трипсин-ЭДТА.

Вопрос. Каков предположительный механизм «перепрограммирования» цитотоксической активности дендритных клеток и макрофагов легких интактных мышей, которым всего за 2 часа до выделения клеток и начала коинкубации с опухолевыми клетками в условиях *ex vivo* однократно вводили агонисты Toll-like-рецепторов и, следовательно, вероятность завершения трансформации этих клеток в подтипы M1 и D1 к моменту окончания эксперимента, то есть всего через 2 часа после введения этих соединений животным, как мне представляется, совершенно невелика?

Ответ. Агонисты TLR вводились системно, внутривенно. При таком способе их доставки в ткани активация клеток должна происходить достаточно быстро, в течение первых десятков минут. Ранее в лаборатории Александром Багаевым было показано, что активация дендритных клеток и макрофагов достигается в первые 2 часа после воздействия агонистами. И в диссертационных исследованиях ориентировались на время 2 часа, предполагая, что этого времени достаточно для активации макрофагов и дендритных клеток в ткани легких. Думаю, что эксперименты в диссертационном исследовании показали, что 2-х часов достаточно, чтобы тканевые макрофаги и дендритные клетки активировались и проявляли цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток.

Вопрос. Рассуждая о перспективах клинического применения иммунотерапии с агонистами Толл-like-рецепторов, можно ли говорить о том, что этот подход может быть применён для лечения широкого круга пациентов после резекции первичного опухолевого узла? Поскольку этот подход не требует предварительного обнаружения мишени на опухолевых клетках, следовательно, он не является опухолеспецифическим и воздействует только на иммунокомпетентные клетки пациента.

Ответ. Одним из преимуществ TLR-агонистов действительно является то, что их действие направлено преимущественно на клетки врождённого иммунитета и не требует предварительного выявления специфических опухолевых мишеней или мутаций, как для таргетной терапии. Поэтому теоретически такой подход возможен для применения в широком спектре пациентов со злокачественными новообразованиями в адъювантном режиме после проведения резекции первичной опухоли с целью элиминации минимальной остаточной болезни и микрометастазов.

Вопрос. В качестве контроля животным вводили физраствор, и на самом деле это самый распространённый контрольное вещество в подобных исследованиях, но всё-таки это является контролем к манипуляциям, то есть к инъекциям, стрессу, но не к воздействию вещества. Может быть, существуют какие-то другие субстанции, сходные по молекулярной массе, химической структуре, но заведомо не обладающая биологической активностью?

Ответ. Действительно, использование физиологического раствора в данном случае является контролем на процедуру введения. Вместе с тем выбор такого контроля был обусловлен тем, что основной целью и задачей исследования являлась оценка эффекта стимуляции TLR-агонистами в сравнении с отсутствием такой стимуляции. Поэтому использовали физраствор. Физраствор традиционно используется в подобных *in vivo* моделях как базовый негативный контроль. Использование структурно сходного, но биологически неактивного соединения могло бы позволить более строго исключить возможные неспецифические эффекты. Однако следует отметить, что для таких

крупных макромолекул, как полисахарид «Иммуномакс» или для двухцепочечный полинуклеотида подобрать неактивные гомологи для TLR-агонистов непросто.

Вопрос. Чем руководствовались при выборе доз исследуемых субстанций и режимов дозирования?

Ответ. При выборе доз мы руководствовались данными литературы, и также результатами предшествующих экспериментов в нашей лаборатории, где исследовались активность агонистов в моделях иммунизации животных инфекциями. Также были протестировали эти агонисты в мышинных моделях с разной концентрацией, различающейся на порядки, от 0,2 до 20 мкг на мышь. Была выбрана доза, обладающая наибольшей стимулирующей активностью в отношении клеток.

Вопрос. Необходимо отметить, что за последние годы в мире инициировано множество клинических испытаний средств, которые являются полными или частичными аналогами субстанций, исследованных в диссертации. В том числе, в сочетании с другими видами противоопухолевой иммунотерапии – вакцинами, ингибиторами контрольных точек иммунитета. Знаком ли автор с результатами этих клинических испытаний. Какую оценку можно им дать?

Ответ. Да, знакома с клиническими исследованиями и, по крайней мере, сейчас есть три клинических исследования, где изучаются TLR3-агонист: Poly ICLC, ринтатолимода и ВО-112. Чаще всего они используются в качестве адъювантов к другим терапиям: химиотерапии, радиотерапии, ингибиторами контрольных точек. Были опубликованы результаты первой фазы клинических испытаний, где использовалась комбинация ринтатолимода + IFN- α и еще двумя препаратами, которые показывали перепрограммирование опухолевого микроокружения в сторону Th1-ответа, цитотоксических CD8-T-клеток и НК-клеток.

Вопрос. Что отличает субстанции, которые стали объектом исследования автора, от упомянутых аналогов? Если ли особые преимущества их применения?

Ответ. Иммуномакс отличается от аналогов, производных липополисахарида, тем, что это – нетоксичный инъекционный препарат, широко используется в медицине и не вызывающий каких-либо побочных явлений. Для агониста TLR3-рецептора таких препаратов нет. На Западе и в США используют аналог – poly-ICLC. Он различный по структуре, чем polyI:C, но используется в экспериментальной клинической практике. Как лекарственный препарат он не зарегистрирован ни FDA, ни другими агентствами.

Вопрос. Есть ли какие-то перспективы у исследованных субстанций выйти на клинические испытания в онкологической клинике в нашей стране?

Ответ. В качестве перехода к клиническим испытаниям Иммуномакс готов, потому что он используется, нежелательных побочных явлений нет. Для агониста TLR4-рецептора да, для агониста TLR3 аналогов нет. Надо сначала его сделать и потому уже тестировать на безопасность.

Диссертационная работа Ушаковой Е.И. «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» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных научных задач, имеющих значение для иммунологии: выявлены новые данные о перепрограммировании тканевых макрофагов и дендритных клеток, которые приобретают способность оказывать цитотоксическое действие на метастатические клетки карциномы 4T1; исследованы особенности формирования долговременной иммунной памяти, специфичной к антигенам опухоли 4T1, в модели рецидива злокачественного новообразования; доказана перспективность использования перепрограммирования миелоидных клеток агонистами TLR после хирургической резекции опухоли для лечения метастатической карциномы 4T1 у мышей BALB/c, обеспечивающее выживаемость 50% мышей.

