

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комиссия в составе председателя – доктора биологических наук Желтиковой-Вострокнутовой Татьяны Михайловны, и членов комиссии доктора медицинских наук, профессора, Курбатовой Екатерины Алексеевны, доктора медицинских наук, профессора, Осиповой Галины Леонидовны, доктора медицинских наук, доцента, Бурцевой Елены Ивановны, доктора медицинских наук Ларичева Виктора Филипповича, доктора медицинских наук Колясниковой Надежды Михайловны рассмотрела диссертационную работу Полины Олеговны Фёдоровой, выполненную в ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. на тему: «**Оптимизация метода обогащения и экспансии популяций натуральных киллеров и НКТ-клеток с возможностью последующей генетической модификации химерным рецептором CAR**», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 1.5.10. Вирусология.

Несмотря на очевидный терапевтический потенциал, CAR-технологии на основе НК- и НКТ-клеток в настоящее время не имеют повсеместного клинического внедрения из-за технологической трудоемкости и высокой себестоимости. Ситуация усугубляется отсутствием унифицированных протоколов генетической модификации и экспансии CAR-НК- и CAR-НКТ-клеток. Поэтому для оптимизации процесса производства CAR-НК-клеток крайне необходима разработка протокола для выделения, активации, экспансии и генетической модификации НК- и НКТ-клеток *in vitro*, включающая в себя преимущества ранее созданных методик.

Результатом диссертационной работы явились комплексное сравнение описанных в литературе методик для культивирования и обогащения популяций НК- и НКТ-клеток, а также анализ эффективности лентивирусной трансдукции, проводимой с использованием различных подходов.

В данной работе впервые для обогащения культивируемых НК-клеток был использован фукозилированный хондроитинсульфат (FCS), а также впервые был разработан протокол для экспансии НК-клеток с применением культуры НЕК 293Т. Полученные данные могут использоваться при проведении доклинических и клинических испытаний препаратов на основе CAR-НК- и/или CAR-НКТ-клеток. Определено, что наибольшая пролиферация и цитотоксическая активность смешанной популяции НК- и НКТ-клеток достигается при культивировании в присутствии ИЛ-2, ИЛ-15 и ИЛ-21, относительно использования только ИЛ-2 или ИЛ-2 и ИЛ-15. Изучено иммуностимулирующее действие FCS на пролиферацию и цитотоксическую активность первичной культуры лимфоцитов человека, активированную с помощью моноклональных антител к CD3-, CD28-рецепторам (МАТ). Проведена сравнительная оценка влияния активаторов пролиферации (МАТ, L-фитогемагглютинин, Конканавалин А или комбинация FCS+МАТ) на экспансию НК- и НКТ-клеток. Выявлен потенциал использования НЕК 293Т в качестве фидерных клеток для НК- и НКТ-клеток, проанализирована эффективность различных подходов для активации НК- и НКТ-клеток с использованием НЕК 293Т. Установлено, что для повышения экспрессии CAR после лентивирусной трансдукции необходимы использование концентрата вирусного вектора, сепарация лимфоцитов, а также селекция полученных CAR-клеток. Полученные данные обработаны с помощью современных статистических методов.

Результаты диссертационной работы представлены в 14 печатных работах, в том числе в 8 статьях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed и включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России и в 5 публикациях в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций. Материалы работы включены в патент №2813531 от 13.02.2024.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»

В качестве **официальных оппонентов** рекомендуются:

**Боженко Владимир Константинович** – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач России, заведующий научно-исследовательским отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Носик Дмитрий Николаевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией противовирусных и дезинфекционных средств «Института вирусологии им. Д.И.Ивановского» в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации

### **Заключение**

Диссертационная работа Фёдоровой Полины Олеговны на тему: «Оптимизация метода обогащения и экспансии популяций натуральных киллеров и НКТ-клеток с возможностью последующей генетической модификации химерным рецептором CAR», выполненная под руководством доктора медицинских наук Маркушина Станислава Георгиевича и кандидата биологических наук Чикилевой Ирины Олеговны и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (медицинские науки) и 1.5.10. Вирусология (медицинские науки), является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной задачи по оптимизации метода обогащения и экспансии популяций натуральных киллеров и НКТ-клеток с возможностью последующей генетической модификации химерным рецептором CAR. Диссертационная работа Фёдоровой П.О. соответствует профилю диссертационного совета ФГБНУ НИИВС им. И.И.Мечникова и может быть рекомендована к защите.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановление правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (со всеми дополнениями и изменениями в последующих редакциях)

Заключение подготовили члены диссертационного совета 24.1.173.01. созданного на базе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова:

председатель комиссии  
доктор биологических наук

Желтикова-Вострокнутова Т.М.

доктор медицинских наук, профессор

Курбатова Е.А.

доктор медицинских наук, профессор

Осипова Г.Л.

доктор медицинских наук, доцент

Бурцева Е.И.

доктор медицинских наук

Ларичев В.Ф.

доктор медицинских наук

Колясникова Н.М.