

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
государственного
учреждения
научный центр
иммунологии" Федеральное медико-биологического агентства Российской Федерации

Федерального
бюджетного
"Государственный
"Институт
Федерального

д.м.н., профессор, академик РАН

Муса Рахимович Хаитов



« 29 » мая 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы

Беловежец Татьяны Николаевны «Оценка эффективности CAR T- и CAR NK-клеток в доклинических моделях В-клеточных онкогематологических заболеваний человека» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. - Молекулярная биология

1. Актуальность темы диссертационной работы

Несмотря на существенный прогресс в лечении В-клеточного острого лимфобластного лейкоза и других В-клеточных онкологических заболеваний, эффективность стандартных подходов для их лечения остается ограниченной, что обуславливает необходимость поиска новых терапевтических стратегий. К числу таких стратегий относится терапия Т-клетками, экспрессирующими химерный антигенный рецептор (CAR Т-клеточная терапия). На сегодняшний день, в мире зарегистрировано 7 коммерческих препаратов индустриального типа производства, а также ряд продуктов академического типа производства. Использование этой платформы позволяет добиться высокой частоты полных ответов и обеспечить долговременную бессобытийную выживаемость пациентов с различными онкогематологическими и аутоиммунными заболеваниями В-клеточной природы.

Тем не менее, несмотря на успешные результаты применения аутологических CAR Т-клеток и у этого формата описано несколько слабых мест. Одной из

основных проблем является потеря опухолевыми клетками антигена, распознаваемого CAR T-клетками, в таком случае, даже если CAR T-клетки сохраняют долговременную персистенцию и активность, они не способны эффективно контролировать опухолевые клетки. Решением такой проблемы может стать создание би- или олигоспецифических CAR.

Вторая группа проблем связана с неудовлетворительным состоянием собственных T-клеток пациента из-за применения более ранних линий медикаментозной терапии и/или с невозможностью сбора достаточного количества лимфоцитов у такого пациента. Это, в свою очередь, может приводить как к невозможности производства CAR T-клеточного продукта, так и к ограниченной персистенции и функциональности полученных клеток. Кроме того, такие факторы как высокая цена производства индивидуального клеточного продукта для каждого пациента и проведение всех необходимых контролей качества серьезно ограничивают доступность терапии для нуждающихся в ней пациентов и могут увеличивать время получения такой терапии. Перспективным решением этого комплекса проблем, таким образом, является переход к аллогенному формату CAR-терапии, в том числе, к использованию альтернативных клеточных носителей, таких как NK-клетки.

Все вышеизложенное позволяет считать, что диссертационное исследование Беловежец Т. Н., целью которого является создание и характеристика CAR, специфичных к двум поверхностным маркерам В-клеток человека, а также исследование возможности применения альтернативных клеточных носителей и "усиленных" векторных конструкций для CAR, выполнено на актуальную тему, а результаты этой работы, причем как позитивные, так и негативные, будут востребованы.

2. Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа имеет классическое строение и включает в себя все необходимые разделы, подробно описывающие как обзор существующей литературы, так и методологические подходы, использованные в работе. Анализ

основных положений диссертации позволяет сделать вывод как о научной, так и прикладной ценности проведенных исследований.

Основные выводы и положения, выносимые на защиту, являются научно обоснованными и достоверными. Задачи исследования четко сформулированы и соответствуют цели работы. Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных молекулярно-биологических, иммунологических и культуральных подходов, а также методов работы с лабораторными животными. Результаты исследований получены на релевантных моделях *in vitro* и *in vivo*. В работе проведено сравнение CD20-распознающих модулей как в мономерном, так и биспецифическом варианте по сравнению с референсным CD19-специфичным рецептором на основе последовательностей *антитела FMC63. Эксперименты проведены с использованием достаточного количества повторностей, полученные результаты проанализированы при помощи релевантных статистических методов.

Выносимые автором на защиту положения логично и четко сформулированы, отражают наиболее значимые результаты собственных исследований, описанных в тексте диссертации. Выводы и практические рекомендации диссертационного исследования являются обоснованными и закономерными.

Вышеприведенная оценка позволяет признать научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, достаточно обоснованными. Диссертационная работа Беловежец Татьяны Николаевны выполнена на высоком методическом уровне и не вызывает возражений.

3. Научная новизна результатов исследования

В работе представлены результаты сравнения трех CD20-специфичных антигенраспознающих доменов CAR в идентичном структурном контексте, исследованы их фенотипические различия, цитотоксичность в тестах *in vitro*, а также *in vivo* на модели ксенотрансплантированной иммунодефицитным мышам острого лимфобластного лейкоза человека. Также были созданы биспецифичные и дуальные варианты CAR, специфичные одновременно к CD19 и CD20, исследованы их функциональные свойства *in vitro*, впервые показано преимущество дуальной конструкции, а для биспецифических - необходимость дополнительной

оптимизации структуры для обеспечения необходимого уровня активности. Впервые проведен сравнительный анализ трех НК-клеточных линий человека как носителей CAR и показано преимущество НК-клеточной линии KHYG-1 в контроле над опухолевыми клетками. Впервые создана фермент-субстратная пара NanoLuc/h-целентеразин для прижизненной визуализации опухолевой нагрузки на модели животных. Наиболее методологически сильной стороной работы представляется именно прямое сопоставление нескольких CD20-специфичных CAR в едином модульном формате, поскольку такой подход позволяет минимизировать влияние посторонних конструкционных факторов и сосредоточиться на различиях, обусловленных природой антигенсвязывающего домена.

4. Значимость для науки и практики результатов диссертационного исследования

В работе Беловежец Татьяны Николаевны представлены новые конструкции CAR, проведены их сравнения в тестах *in vitro* и *in vivo*. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего доклинического исследования и последующего клинического использования. Автором созданы новые биспецифические конструкции и показаны проблемы и перспективы такого подхода, а также выявлены сложности и намечены потенциальные пути их разрешения. Важной и практически полезной частью работы является создание клеточной линии Nalm6-NLuc-copGFP и апробация системы биолуминесцентной визуализации на основе NanoLuc/h-целентеразина, которая может использоваться для количественной оценки и изучения биораспределения опухолевых клеток в экспериментах на модельных животных.

Среди CAR НК-клеточных линий YT, NK-92 и KHYG-1, проявляющих сравнимую CAR-опосредованную специфичность к CD20 *in vitro*, показано, что клетки CAR KHYG-1 достоверно увеличивали продолжительность жизни мышей с опухолью Raji-ffluc *in vivo*.

Таким образом, в работе исследованы как фундаментальные, так и практические аспекты CAR Т-клеточной терапии В-клеточных неоплазий, что может быть использовано для дальнейшего клинического применения.

5. Оценка содержания, степень завершенности и качество оформления диссертационного исследования

Диссертационное исследование Беловежец Татьяны Николаевны изложено на 134 страницах печатного текста и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и обсуждение собственных исследований, заключение, выводы, список сокращений, список литературы с достаточным количеством источников (более 500) и одно приложение. Диссертация содержит 29 рисунков и 7 таблиц в качестве иллюстративного материала, что позволяет более полно воспринимать изложенный материал.

Исследование оформлено в соответствии с существующими требованиями и стандартами, написано адекватным литературным языком и представляет собой законченное исследование с достигнутой целью и реализованными задачами.

Введение обосновывает актуальность проблемы, содержит лаконично сформулированную цель и задачи исследования, а также содержит описание научной новизны, практическую и теоретическую значимость полученных результатов и основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы изложен в первой главе диссертации, имеет объем 32 страницах текста и позволяет читателю понять современное состояние CAR T- и CAR NK-клеточной терапии В-клеточных онкологических заболеваний, существующие проблемы и перспективы развития такой платформы. Вторая глава диссертации содержит подробное описание методов исследования и использованных реактивов. Полученные результаты, а также их обсуждение представлены в третьей главе научно-квалификационной работы. В ходе работы были созданы новые CAR, специфичные к CD20 и одновременно к CD20 и CD19, и охарактеризованы в тестах *in vitro* и *in vivo*. Сравнение активности вновь созданных рецепторов проводилось по отношению к первому зарегистрированному CD19-специфичному CAR рецептору, основанному на FMC63 антиген-распознающем модуле. Подобрана фермент/субстратная пара, позволяющая эффективно визуализировать опухолевые клетки и оценивать, как суммарную опухолевую

нагрузку, так и распределение таких клеток в динамике для проведения исследований на *in vivo* моделях. Показано, что CAR NK-клетки на основе линии КНУГ-1 достоверно увеличивают продолжительность жизни мышей с ксенотрансплантированными опухолями.

В заключении автор подытоживает полученные результаты и приводит перспективы дальнейших исследований. Выводы диссертационной работы следуют из проведенной исследовательской работы и полностью основаны на полученных результатах.

Автореферат содержит положения, выносимые на защиту, и выводы, соответствующие тексту диссертации. По материалам диссертации опубликовано 8 работ: 5 статей в российских и зарубежных журналах, из них 4 публикации в журналах, включенных в перечень ВАК Министерство науки и высшего образования Российской Федерации. Положения выполненной работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях в виде устных докладов.

6. Замечания и вопросы по диссертационной работе

Необходимо отметить высокий методический уровень диссертационной работы Беловежец Татьяны Николаевны: использованы современные молекулярно-биологические методы и методы статистического анализа, что оставляет благоприятное впечатление о работе. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

По диссертационной работе имеются следующие комментарии:

1. Возможно, стоило бы более подробно и детально описать создание использованных в работе генетических конструкций.
2. Как долго наблюдалась персистенция CAR T-клеток на *in vivo* модели, проводилось ли изучение фенотипов клеточных продуктов после введения?

Вышеуказанные вопросы не являются принципиальными и не оказывают влияния на положительную оценку диссертационной работы, они указывают на необходимость развития данного научного направления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Беловежец Татьяны Николаевны «Оценка эффективности CAR T- и CAR NK-клеток в доклинических моделях В-клеточных онкогематологических заболеваний человека», выполненная под научным руководством кандидата биологических наук Горчакова Андрея Александровича и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится описание разработки альтернативных способов клеточной иммунотерапии В-клеточных онкологических заболеваний и полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями и дополнениями в редакции от 16 октября 2024 года, действующей с 01 января 2025 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Беловежец Татьяна Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Диссертационная работа заслушана и одобрена на семинаре ГНЦ "Института иммунологии" ФМБА РФ 12 мая 2026 года, протокол 1.

Отзыв на диссертационную работу составил доктор биологических наук, заместитель директора по науке и инновациям Шиловский Игорь Петрович.

Шиловский Игорь Петрович

Доктор биологических наук,

Зам. директора по науке и инновациям

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр "Институт иммунологии" Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации

Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д.24;

тел. +7 (499) 617-10-27;

официальный сайт: <https://nrcii.ru/>; e-mail: info@nrcii.ru