

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ФГАНУ
«Федеральный научный центр
исследований и разработки
иммунобиологических препаратов»

(Институт полиомиелита)
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения
«Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических
препаратов им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита).

Диссертация Баюровой Екатерины Олеговны на тему: «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1» по специальности 1.5.10. - «Вирусология» выполнена в лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Баюрова Екатерина Олеговна с 2018 года работала в ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» в должности лаборанта-исследователя, младшего научного сотрудника, а с 2021 года по настоящее время – в должности научного сотрудника лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

С 2016 года Баюрова Екатерина Олеговна по совместительству работает в должности лаборанта-исследователя в лаборатории молекулярного патогенеза хронической вирусной инфекции Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2016 году с отличием окончила Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, получив степень бакалавра по специальности 06.03.01 – «Биология».

В 2018 году с отличием окончила Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, получив степень магистра по специальности 06.04.01 – «Биология».

В 2018 году Баюрова Е.О. поступила в очную академическую аспирантуру ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» по специальности 03.02.02. – «Вирусология» (справка о сдаче кандидатских экзаменов № 31 от 22 октября 2021 г. об обучении в очной аспирантуре справка № 28 от 22 октября 2021 г., выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научный руководитель – Беликова-Исагулянц Мария Георгиевна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярного патогенеза хронических вирусных инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность работы.

По состоянию на конец 2021 года в мире проживало 38,4 млн ВИЧ-инфицированных людей. При этом, только в 2021 году было зарегистрировано более 5 млн новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией, среди которых у 650 тыс. больных заболеваемость закончилась летальным исходом.

В то же время в Российской Федерации помимо проживавших более 1,1 млн людей, инфицированных ВИЧ-1, было выявлено ещё более 70 тыс. новых случаев и 34 тыс. летальных исходов от ВИЧ-инфекции. На сегодняшний день этот вирус стал причиной смерти более 40 млн человек, включая 425 тыс. граждан России. Таким образом, ВИЧ-инфекция в настоящее время остается высоко актуальной и социально значимой медицинской проблемой не только в России, но и в большинстве стран мира.

В 2021 году 75% ВИЧ-инфицированных людей в мире получали антиретровирусную терапию. В России охват лечением составил 82,2% от состоящих на диспансерном учете пациентов и 56,4% от тех, у кого был выявлен ВИЧ-1. Применение антиретровирусной терапии вызывает развитие мутаций лекарственной устойчивости, требующих перехода на вторую и третью линии терапии, что сильно удорожает лечение. Подавление вирусной нагрузки у лиц, принимающих антиретровирусную терапию, достигается в 76%-78% случаев, то есть с анти-вирусологическая неэффективность терапии составляет не менее 20% среди ВИЧ-инфицированных лиц. За последние десятилетия на территории РФ возросла частота встречаемости вирусов с мутациями лекарственной устойчивости у людей, не принимавших ранее антиретровирусную терапию (с 1% в 2005 г. до 5,4% в 2022 г.), включая множественную лекарственную устойчивость (1,1% в 2021 г.), что

предопределяет довольно высокий потенциал дальнейшего снижения эффективности антиретровирусной терапии. Большинство механизмов действия препаратов антиретровирусной терапии связаны с ингибированием обратной транскриптазы, интегразы и протеазы ВИЧ-1. Терапевтическая вакцинация, нацеленная на лекарственно устойчивые формы этих белков, в сочетании с антиретровирусной терапией могла бы отсрочить или даже предотвратить появление и распространение лекарственно устойчивых вариантов вируса. Несмотря на десятилетия испытаний профилактических вакцин против ВИЧ-инфекции, к концу 2022 года только 7 клинических испытаний дошли до фазы 2b и 3. Среди плеяды испытаний профилактических вакцин против ВИЧ-инфекции, проводится также ряд испытаний терапевтических вакцин в различных группах ВИЧ(+) лиц, однако на данный момент однозначных результатов в ходе этих испытаний получено не было. Кроме того, стоит отметить, что ни одна из исследуемых на настоящий момент терапевтических вакцин не нацелена на мутации лекарственной устойчивости. Разработка таких вакцин осложняется отсутствием животной модели для масштабного тестирования эффективности как профилактических, так и терапевтических вакцин против ВИЧ-1, вызывающих иммунный ответ, направленный против неструктурных вирусных белков, в том числе их лекарственно устойчивых вариантов. В то же время для испытаний терапевтических вакцин против вируса папилломы человека (ВПЧ) и вируса гепатита С (ВГС) используются модели на основе сингенных клеточных линий мышей, экспрессирующих антигены ВПЧ и ВГС, соответственно. Вакцины, проявившие свою эффективность на таких моделях, успешно дошли до поздних стадий клинических испытаний, что свидетельствует о рациональности разработки подобных моделей для ВИЧ-1. Вместе с тем, моделей для доклинических испытаний вакцин против ВИЧ-1 на основе сингенных клеточных линий мышей, экспрессирующих антигены ВИЧ-1, на сегодняшний день не разработано.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Автором проведен анализ литературы, изучена степень разработанности проблемы с определением цели, задач исследования и его дизайна. Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор лично провёл статистическую обработку, сформулировал основные положения и выводы диссертации. Лично или с участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. В целом, личный вклад в выполнении творческой части исследования – в пределах 85%.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных в ходе работы данных определяется достаточным числом исследований, длительным сроком наблюдений, комплексным подходом к проведению исследований, выполненным с использованием современных методов и статистической обработки полученных результатов. Все выводы и практические

рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Материалы исследования были представлены и обсуждены в 13 докладах на 9 международных конференциях: IV международный саммит «Skin vaccination summit-2017» (Лейден, Нидерланды, 2017); Международная конференция «Vaccines and vaccination» (Москва, 2017); Ежегодный конгресс Международного вакцинного общества «International Society for Vaccine, Annual Congress» (Париж, Франция, 2017, 3 доклада); Международная научная конференция университета Страдина «RSU Scientific conference 2018» (Рига, Латвия, 2018); Международная конференция «Perspective technologies in vaccination and immunotherapy» (Москва, 2018); Ежегодный конгресс Международного вакцинного общества «International Society for Vaccine, Annual Congress» (Атланта, США, 2018, 2 доклада); Международный конгресс «Immuno-oncology» (Вена, Австрия, 2018); Международная научная конференция университета Страдина «Riga stradins University international conference on Medical and Health Care Sciences «Knowledge For Use in Practice»» (Рига, Латвия, 2019); Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2019); Петербургский международный онкологический форум (Санкт-Петербург, 2019).

Научная новизна.

В работе создана оригинальная модель для тестирования вакцин против ВИЧ-1 в лабораторных мышах, основанная на имплантации сингенных опухолевых клеток, экспрессирующих варианты RT, IN и PR, в том числе с мутациями лекарственной устойчивости. Для этого были впервые получены производные высоко туморогенной, спонтанно метастазирующей клеточной линии 4T1luc2, экспрессирующих варианты RT, IN и PR ВИЧ-1 штамма FSU_A, в том числе с мутациями лекарственной устойчивости. Была впервые оценена эффективность ДНК-иммунизации против лекарственно устойчивых вариантов RT, IN и PR ВИЧ-1 путем имплантации иммунизированным мышам опухолевых клеток, экспрессирующих соответствующие варианты ферментов ВИЧ-1. Впервые была продемонстрирована возможность использования *ex vivo* биолюминесцентного сигнала для оценки миграции опухолевых клеток в дистальные органы, а также применимость параметра миграции опухолевых клеток при оценке эффективности индуцированного иммунного ответа. Показано, что в экспериментах с имплантацией опухолевых клеток иммунизированным мышам индуцированный иммунный ответ обладает разной степенью протективности, несмотря на высокую иммуногенность плазмидных конструкторов при ДНК-иммунизации.

Практическая значимость.

Настоящая работа демонстрирует возможность применения моделей на основе сингенных клеточных линий мышей, продуцирующих вирусный антиген, для оценки эффективности вакцин против ВИЧ-1, включая лекарственно устойчивые варианты вируса. В работе продемонстрирована важность включения мутаций, приводящих к аминокислотным заменам в вирусных Т-клеточных

эпитопах, в состав прототипных вакцин и при создании линий клеток, экспрессирующих данные антигены. В ходе работы было показано, что иммунный ответ, направленный против фермента ВИЧ-1 без мутаций лекарственной устойчивости, теряет эффекторный потенциал за счет неспособности распознать Т-клеточный эпитоп в участке мутации лекарственной устойчивости, вместо этого повышая туморогенную и миграционную/метастатическую активность опухолевых клеток. Полученные в работе данные подтверждают целесообразность использования подобных моделей для оценки протективного потенциала вакцинных кандидатов до перехода к следующим фазам клинических исследований. Разработанный в настоящей работе подход к созданию моделей для оценки эффективности иммунного ответа, индуцируемого вакцинами на основе субклонов клеточной линии 4T1uc2, экспрессирующих вирусные антигены, может быть распространен на другие вирусы, вызывающие хроническую инфекцию человека, но не инфицирующие лабораторных мышей. В рамках разработанной модели было продемонстрировано, что RT является относительно сильным иммуногеном, пригодным для включения в кандидатную вакцину против лекарственно устойчивого ВИЧ-1, PR является относительно сильным Т-клеточным иммуногеном, потенциально пригодным для включения в кандидатную вакцину против лекарственно устойчивого ВИЧ-1 при условии корректного подбора включаемых мутаций лекарственной устойчивости, а IN является относительно слабым иммуногеном, не эффективным для включения в кандидатную вакцину против лекарственно устойчивого ВИЧ-1.

Научная специальность, которой соответствует диссертация.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10. – «Вирусология». Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 7, 10, 11 паспорта специальности «Вирусология».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Основные результаты работы полностью отражены в печати. По теме работы опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в библиографических базах – Web of Science, Scopus, PubMed, а также 1 тезисы в сборнике международной конференции.

Общее заключение.

Диссертация соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14, Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; с изменениями в действующей ред. от 18.03.2023 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, доктора наук и является законченной

научно-квалификационной работой. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные данные и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных практическими методами данных с теоретическими заключениями.

Диссертация Баюровой Екатерины Олеговны на тему: «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Заключение принято на заседании научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Присутствовало на заседании 17 членов комиссии, (имеющих ученую степень доктора наук – 10 членов, кандидата наук – 7 членов) из 21 списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 17 членов комиссии;

«Против» – нет;

«Воздержалось» – нет;

Протокол заседания № 3 от 12 апреля 2023 г.

Председатель научной экспертной комиссии,
руководитель научного направления учреждения
профессор, д.м.н.

Евгений Александрович Ткаченко

Секретарь научной экспертной комиссии,
ученый секретарь
к.б.н.

Алла Владимировна Белякова

Подписи проф., д.м.н. Ткаченко Е.А., к.б.н. Беляковой А.В. удостоверяю.

Начальник отдела кадров

ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

(Институт полиомиелита)



А.И. Симакова

«11» апреля 2023 г.