

ОТЗЫВ

На автореферат кандидатской диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Баюровой Екатерины Олеговны

«ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА КАНДИДАТНЫЕ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ-1»
по специальности 1.5.10. – Вирусология

ВИЧ-инфекция к настоящему времени остается одной из главных проблем мирового здравоохранения. По данным ВОЗ, вирус унес более 40 миллионов человеческих жизней, и выявление новых случаев инфицирования продолжается во всем мире. ВИЧ-1 представлен разными субтипами и рекомбинантными штаммами, среди которых территориально наиболее распространен субтип В, доминирующий на территории США, Австралии, Японии и стран Западной Европы, а на территории постсоветского пространства доминирует вирус субтипа А (FSU-A). В последние годы с распространением антиретровирусной терапии (АРТ) увеличивается число случаев лекарственной устойчивости (ЛУ), причем у некоторых людей устойчивость к лекарственным препаратам может быть установлена еще до начала лечения. ЛУ вызвана изменениями в генетической структуре ВИЧ, влияющими на способность препаратов блокировать репликацию вируса. Большинство механизмов действия препаратов АРТ связаны с ингибированием обратной транскриптазы (RT), интегразы (IN) и протеазы (PR) ВИЧ-1. В настоящее время, активные исследования ведутся в области создания терапевтических вакцин, нацеленных на ЛУ формы данных белков, что требует создания адекватных моделей на животных для оценки действия кандидатных вакцинных препаратов.

В связи с этим, диссертация Баюровой Екатерины Олеговны посвящена актуальной проблеме – разработке экспериментальной модели для оценки кандидатных ДНК-вакцин против ВИЧ-1 (в том числе с мутациями ЛУ) по их способности формировать эффективный иммунный ответ *in vivo*. В настоящее время в арсенале исследователей имеются модели для доклинической оценки терапевтических вакцин против вируса папилломы человека (ВПЧ) и вируса гепатита С (ВГС) на основе сингенных клеточных линий мышей, экспрессирующих вирусные антигены (АГ). Однако до сих пор не было создано подобной модели для изучения кандидатных вакцин против ВИЧ-1. Научная новизна проведенного исследования заключается в создании оригинальной модели для тестирования вакцин против ВИЧ-1 *in vivo* с использованием имплантации мышам сингенных опухолевых клеток, экспрессирующих варианты RT, IN и PR, в том числе с мутациями ЛУ. Впервые была проведена оценка эффективности иммунизации ДНК-вакцинными конструктами в данной модели. В работе впервые использованы возможности *ex vivo* биолюминесцентного сигнала для оценки миграции опухолевых клеток в дистальные органы для оценки эффективности индуцированного иммунного ответа.


Автореферат дает полное представление о содержании диссертационной работы и включает все необходимые разделы. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Основная цель и конкретные задачи тщательно обоснованы с учетом современного состояния проблемы (список изученной литературы включает 286 источников). Для решения поставленных задач автором использован широкий ряд современных методов молекулярной биологии *in vitro* и *in vivo*, включая методы трансфекции, ПЦР, получение лентивирусных частиц, введение ДНК методом электропорации, имплантация мышам клеток, экспрессирующих люциферазу, с последующей *in vivo* детекцией биолюминесценции, а также гистологические методы.

Иммунологические методы включают в себя определение продукции цитокинов IL-2 и IFN- γ методом FluoroSpot, а также ELISA. Полученные данные обработаны адекватными статистическими методами. Основные результаты работы представлены и обсуждены на международных конференциях, опубликованы в трех статьях в рецензируемых журналах.

В результате проведенных исследований была разработана модель для функциональной оценки иммунного ответа, индуцируемого кандидатными вакцинами против ВИЧ-1, на мышах на основе сингенных клеточных линий, экспрессирующих ферменты ВИЧ-1 без мутаций и с мутациями ЛУ. Для этого было получено 9 субклонов линии 4T11uc2, кодирующих ферменты ВИЧ-1 RT, IN, PR, а также варианты с мутациями ЛУ, и проведено изучение туморогенного потенциала данных субклонов при введении сингенным мышам. На основе синтетических экспрессионно оптимизированных генов ВИЧ-1, кодирующих варианты RT, IN и PR с мутациями и без мутаций ЛУ, были получены плазмиды для ДНК-иммунизации (ДНК-вакцинные конструкторы) и охарактеризована их иммуногенность. Для оценки эффективности противовирусного иммунного ответа в системе опухолевого «челленджа» были использованы панели ДНК-вакцинных конструкторов и субклонов, презентующих соответствующие вирусные АГ. Во всех группах, частично защищенных от формирования опухолей, размеры опухолей обратно коррелировали с иммунным ответом на экспрессируемый ими фермент ВИЧ-1. Разработанная модель позволяет оценить эффективность различных видов иммунного ответа, направленного на варианты ферментов ВИЧ-1 с мутациями и без мутаций ЛУ. Согласно полученным в работе данным, мутации ЛУ связаны не только с уходом от ингибирования препаратами АРТ, но и с избеганием иммунного ответа.

На основании полученных в работе данных автором сделаны семь выводов. Выводы логически следуют из материалов диссертации, полностью обоснованы результатами проведенных исследований. Диссертационная работа имеет высокое теоретическое и практическое значение. Полученные в работе данные подтверждают целесообразность использования моделей на основе сингенных клеточных линий мышей, экспрессирующие вирусные АГ (в том числе с ЛУ) для оценки протективного потенциала вакцинных кандидатов. Разработанные в ходе работы субклоны опухолевых клеток могут найти применение в доклинических испытаниях протективных свойств вакцин. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10. – «Вирусология», а ее автор, Баурова Екатерина Олеговна, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук.

Заведующая лабораторией векторных вакцин
Отдела вакцинологии
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России, к.м.н.

 Стукова М.А.

*Подпись Стуковой М.А.
закрываю
Ученый секретарь ФГБУ
«НИИ гриппа им. А.А.
Смородинцева» Минздрава
России к. м. н.
27.09.23г.*



Доктор / Мухоматова