

## ОТЗЫВ

### на автореферат диссертационной работы Баюровой Екатерины Олеговны «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология»

Россия в последнее десятилетие стала одной из самых неблагополучных стран мира по доле инфицированного ВИЧ-1 населения, и только в России в 2021 году умерло от последствий этой инфекции более 30 тысяч человек, причем в основном – это молодые люди до 45 лет. В последние годы главным путем заражения стал не прием внутривенных наркотиков, а половой путь, причем в подавляющей части случаев заражаются молодые люди, нерегулярно принимающие анти-ВИЧ-терапию и, к сожалению, на использующие механические средства защиты. Более того, среди всех ВИЧ-инфицированных только 56,4% применяют эту терапию. Так что возможностей для заражения ВИЧ-инфекцией в России остается много. Наконец, поскольку в России в основном применяется анти-ВИЧ-терапия 1 поколения, то быстро растет доля ЛУ-вариантов, а средства 2-3 поколения терапии стоят дорого и производятся они в России пока что в явно недостаточном количестве. В такой ситуации надо искать нетривиальные пути решения. Автор данной работы и предлагает стратегически полужантастический путь ее решения через попытку разработки терапевтической вакцины, нацеленной на лекарственно-устойчивые формы основных мишеней для антиретровирусной терапии – вирусные ферменты ревертазу, протеазу и интегразу. Будет ли это работать на человеке неясно, но любой большой путь начинается с малого. А малое в данном случае и является целью этой диссертационной работы: разработка и первичная апробация экспериментальной модели для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против болезни, вызываемой ВИЧ-1. Причем основаны предлагаемые кандидатные вакцины на ДНК, кодирующих гены вышеуказанных ферментов с лекарственно-устойчивыми мутациями. Конечно, концепция такой вакцины вызывает вопросы, но, во-первых, практика – критерий истинны, а во-вторых, всё-таки главная цель работы – это разработка и апробация экспериментальной модели для оценки иммунного ответа.

В ходе выполнения работы получены весьма интересные и полезные результаты. Наиболее важные из них:

1. Сконструированы, получены и охарактеризованы субклоны линии 4T1uc2, кодирующие гены вариантов обратной транскриптазы (RT) с мутациями лекарственной устойчивости к ряду нуклеозидных и ненуклеозидных ингибиторам, интегразы (IN) и ее варианта с мутациями к ралтегравиру, а также вариантов протеазы (PR) с мутациями резистентности к различным ингибиторам протеазы.
2. Экспрессия лекарственно-устойчивых вариантов ферментов ВИЧ-1 не изменяла опухолеобразующий потенциал и гистологические характеристики формируемых опухолей. Все субклоны способны формировать опухоли в сингенных мышах, представляющие собой позднюю стадию (G3) слабодифференцированной аденокарциномы с повышенной клеточной и ядерной атипией и частыми областями некроза и воспаления.
3. Экспрессия лекарственно-резистентных вариантов ферментов ВИЧ-1 не изменяла органную специфичность и уровень миграции субклонов опухолевых клеток

оцененных по биоломифесцентному сигналу от органов *ex vivo*. Для отдельных субклонов при гистологическом исследовании были выявлены различия в числе и размере метастаз в печени.

4. Путем вариационных экспериментов были подобраны оптимальные параметры имплантации и мониторинга показателей роста опухоли, миграции и метастазирования.
5. Иммуный ответ на ДНК-иммунизацию конструктами, кодирующими варианты RT, опосредованный RT-специфичными антителами, частично защищал иммунизированных животных от формирования опухолей в рамках разработанной модели при имплантации субклонов 4T1Luc2, экспрессирующих соответствующий вариант RT.
6. Смешанный иммуный ответ на ДНК-иммунизацию конструктами, кодирующими варианты IN, опосредованный как Т-клетками, так и IN-специфичными антителами, замедлял рост опухолей и подавлял метастазирование, но не обеспечивал защиты от формирования опухолей в рамках разработанной модели при имплантации субклонов 4T1Luc2, экспрессирующих как соответствующий вакцинному вариант IN, так и вариант имеющий аминокислотные замены.
7. Иммуный ответ на ДНК-иммунизацию конструктами, кодирующими варианты PR, опосредованный CD8<sup>+</sup> Т-клетками, в рамках разработанной модели защищал только от формирования опухолей при имплантации субклонов 4T1Luc2, кодирующих соответствующий вакцинному вариант PR. При этом было показано, что иммуный ответ, направленный на другие участки PR (кроме участка, содержащего замену V82A), способствовал росту опухолей и усиливал метастазирование.

Работа выполнена на высоком методическом уровне, поставленные задачи корректны, выводы обоснованы полученными экспериментальными данными. Полученные Баюровой Е.О. результаты подтверждают целесообразность использования подобных моделей для первичной оценки протективного потенциала кандидатных вакцин до перехода к следующим, гораздо более затратным фазам доклинических исследований.

Разработанный в настоящей работе подход к созданию моделей для оценки эффективности иммунного ответа, индуцируемого вакцинами, на основе субклонов клеточной линии 4T1Luc2, экспрессирующих вирусные антигены, может быть распространен и на другие вирусы, вызывающие хроническую инфекцию человека, но не инфицирующие лабораторных мышей.

Кроме того, автором с применением разработанной модели было продемонстрировано, что ревертаза (RT) является относительно сильным иммуногеном, потенциально пригодным для включения в кандидатную вакцину против ЛУ ВИЧ-1, вирусная протеаза (PR) является относительно сильным Т-клеточным иммуногеном, потенциально пригодным для включения в кандидатную вакцину против ЛУ ВИЧ-1 при условии корректного подбора включаемых мутаций ЛУ. В то же время интеграза (IN) является относительно слабым иммуногеном, не эффективным для включения в кандидатную вакцину против ЛУ ВИЧ-1.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации, изложены в 3 публикациях в международных журналах, цитируемых в базах данных Scopus и Web of Science. Результаты и выводы исследований представлены на 9 отечественных и международных научных конференциях и конгрессах.

Автореферат написан четко, ясно и грамотно, хорошо иллюстрирован и дает достаточно полное представление об исследовании. Поставленные в работе цели и задачи достигнуты и решены, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. На основе представленного автореферата заключаю, что диссертация Баюровой Е.О. «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой обосновано и содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для клинической иммунологии и аллергологии. В частности, в работе были продемонстрированы результаты разработки и апробации новой экспериментальной модели, предназначенной для первичной оценки иммунного ответа на кандидатные вакцины против ВИЧ-инфекции. Также показаны иммуногенные свойства кандидатных вакцин на основе трех ферментов вируса ВИЧ-1.

Судя по автореферату, диссертация Баюровой Е.О. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в пп.9-14 «Положения о присуждении 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.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

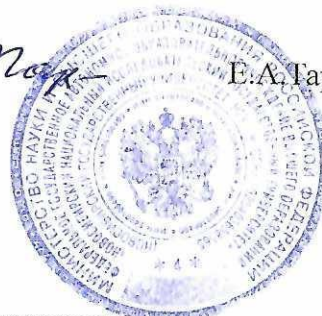
Заведующий лабораторией бионанотехнологии,  
микробиологии и вирусологии факультета естественных наук  
Новосибирского государственного университета,  
академик РАН, д.б.н., профессор  
E-mail: svn15@hotmail.com; netesov.s@nsu.ru  
тел. +7 (383) 363-42-03

 Сергей Викторович Нетёсов

Подлинность подписи С.В. Нетёсова заверяю:  
Ученый секретарь НИУ, к.х.н.

 Е.А. Гарабан

«3» октября 2023 года



630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НИУ).  
Тел. (383) 363-43-33. <http://www.nsu.ru>.