

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

Член-корр. РАН, д.м.н.

О.А. Свитич

2023 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» о научно-практической значимости диссертации Бакуровой 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».

Актуальность темы выполненной работы

На протяжении нескольких десятилетий вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) остается одной из главных проблем мирового здравоохранения. Применение антиретровирусной терапии (АРТ) позволило снизить смертность от данного вируса, а масштабные мировые программы по увеличению осведомленности населения, распространению барьерных средств контрацепции в группах риска, концепция снижения вреда и применение АРТ в целях профилактики для лиц, контактирующих с ВИЧ-инфицированными людьми позволило снизить темпы распространения ВИЧ-инфекции, но не остановить ее. Многие эксперты сходятся во мнении, что только появление вакцины против ВИЧ-1 способно остановить распространение ВИЧ-инфекции. Разработка таких вакцин сталкивается с множеством сложностей, такие как генетическое разнообразие вируса, интеграция вируса в геном человека, плотное гликозилирование поверхностного белка, закрывающее иммунологические эпитопы и другие. Одной из проблем является отсутствие подходящих моделей для оценки эффективности кандидатных вакцин на ранних стадиях исследований. Применяемые на сегодняшний день модели на основе иммунодефицитных мышей с гуманизированной кровеносной системой человека, восприимчивых к инфекции ВИЧ или моделей на приматов и вирусов иммунодефицита обезьян (SIV) или химерного SIV/ВИЧ вируса крайне дорогостоящи и имеют ограниченный трансляционный потенциал. Стоит отметить и распространение лекарственной устойчивости (ЛУ) ВИЧ, как среди ВИЧ-инфицированных людей, принимающих АРТ, так и среди вновь инфицированных

людей. Рядом исследователей было показано, что мутации ЛУ связаны не только с уходом от воздействия АРТ, но и с иммунологическим бегством. Терапевтическая вакцинация ВИЧ-инфицированных людей, индуцирующая иммунный ответ, направленный на лекарственно-устойчивые формы вируса, позволит снизить частоту возникновения ЛУ, что в том числе позволит пролонгировать курс АРТ первого эшелона. На сегодняшний день, животных моделей, позволяющих оценить эффективность кандидатных вакцин такого типа не разработано.

Диссертация Баюровой Екатерины Олеговны посвящена разработке модели для оценки эффективности кандидатных вакцин против ВИЧ-1, в том числе, нацеленных на предотвращение появления ЛУ форм вируса. Разработанная в ходе диссертационного исследования модель сделана на основе клеточной линии мышины природы, продуцирующей вирусный антиген – обратную транскриптазу, интегразу и протеазу ВИЧ-1. Аналогичные суррогатные модели уже были разработаны для исследований вакцин против вируса папилломы человека и вируса гепатита С, показали свою эффективность и высокий трансляционный потенциал полученных результатов. Баюровой Е.О. было показано, что продукция выбранных вирусных антигенов не снижает туморогенный и метастатический потенциал клеток, используемых в основе модели, что важно, с точки зрения потенциальных ложноположительных результатов ввиду иммунологического отторжения самих клеток. Для разработанной модели были подобраны основные параметры мониторинга и проведена ее апробация с использованием панели ДНК-вакцинных кандидатов, кодирующих обратную транскриптазу, интегразу и протеазу ВИЧ-1, в том числе с мутациями ЛУ. В ходе исследования Баюровой Е.О. было продемонстрировано, что разработанная модель может быть использована с ДНК-вакцинными кандидатами, индуцирующими различные типы иммунного ответа. В ходе апробации разработанной модели в том числе была продемонстрирована нецелесообразность включения интегразы, как компонента ДНК-вакцин против ВИЧ-1.

Данная кандидатская диссертация актуальна, имеет большую теоретическую и практическую значимость в сфере разработки вакцин против ВИЧ-1 и содержит важный практический задел для проведения масштабных исследований эффективности кандидатных вакцинных препаратов на ранних стадиях исследования, что позволит снизить стоимость разработки вакцин против ВИЧ-1.

Связь с планами соответствующей отрасли науки

Диссертационная работа Баюровой Е.О. выполнена в соответствии с основными направлениями современных научных исследований.

Новизна полученных результатов и выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации, заключается в том, что Е.О. Баюровой впервые была получена модель на основе клеточных линий мышины природы для оценки

эффективности кандидатных вакцин против ВИЧ-1, в том числе терапевтических, направленных на предотвращение развития лекарственной устойчивости вируса. Также впервые была использована линия клеток 4T1luc2, продуцирующих люциферазу светлячка в качестве основы для создания моделей такого типа, что позволило расширить спектр мониторируемых параметров для оценки эффективности иммунного ответа и включить в него кинетику роста опухоли, оцененную по кинетике биолюминесцентного сигнала от места имплантации клеток и миграционным потенциалом клеток, оцененный по *ex vivo* биолюминесценции органов. В диссертации Баюровой Е.О. продемонстрировано, что разработанная модель позволяет эффективно оценить эффективность кандидатных вакцин против ВИЧ-1, индуцирующих как преимущественно Т-клеточный, так и преимущественно антительный и смешанный тип иммунного ответа.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные результаты подтвердили возможность применения моделей на основе клеточных линий мышины природы, продуцирующих вирусный антиген для оценки эффективности вакцин против ВИЧ-1. Полученные в ходе апробации модели данные указывают на перспективность включения обратной транскриптазы и протеазы в качестве иммуногенов при создании комплексной вакцины против ВИЧ-1, направленной на предотвращение формирования мутаций лекарственной устойчивости. Полученная в ходе выполнения диссертационного исследования модель может найти широкое применение в практике на первых этапах разработки вакцин против ВИЧ-1.

Кроме того, полученные в ходе работы производные клеточной линии 4T1luc2 могут быть использованы в дальнейшем для изучения патологии, связанной с хронической продукцией отдельных вирусных белков.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в выполнении всех разделов данного исследования, а также в проведении анализа полученных данных и представлении результатов на конференциях и в виде научных публикаций.

Степень достоверности и обоснованности представленных данных

Обоснованность представленных в диссертационной работе данных обусловлена комплексным подходом к проведению исследования, корректным выбором широкого спектра современных методических подходов, строгими условиями проведения опытов, достаточной выборкой лабораторных животных, адекватно подобранным методами статистической обработки полученных данных, а также наличием повторов в экспериментах.

Все это позволяет отметить, что проведенное исследование является оригинальным, завершенным в рамках поставленной цели и задач научно-квалификационным трудом.

Достоинства и недостатки содержания и оформления работы

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 148 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, результатов исследований и обсуждения, общего заключения, выводов, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 286 источников литературы. Во введении сформулирована цель работы «». Все запланированные задачи соответствовали цели исследования и были выполнены в полной мере.

В обзоре литературы описаны основные молекулярно-биологические характеристики вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) и его отдельных белков – обратной транскриптазы, интегразы и протеазы, являющихся основными мишенями антиретровирусной терапии. Кроме того, рассматриваются актуальные данные о разрабатываемых вакцинах против ВИЧ-1 и используемых животных моделях, для оценки эффективности данных вакцин. Большая часть обзора, возможна даже избыточная, литературы посвящена принципам создания моделей с использованием клеточных линий мышины природы.

Глава «Материалы и методы» дает достаточное представление о технической стороне работы, подробно описывает использованные в работе методики. В работе использованы как классические молекулярно-биологические методы, так и современные методы работы с животными.

Глава «Результаты» состоит из 9 разделов, соответствующих поставленным задачам и цели. Все результаты сопровождаются информативным материалом в графическом или табличном формате и обсуждением.

В главе «Заключение» Е.О. Баюрова обобщает и анализирует результаты исследования, подтверждает важность и актуальность полученных данных, а также указывает возможные области их применения.

Диссертация завершается выводами, которые демонстрируют достижение соискателем цели и поставленных в работе задач.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. – Вирусология.

Апробация работы и публикации

По теме диссертационной 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.

Материалы работы многократно представлены и обсуждены на международных научно-практических конференциях.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Баюровой Е.О. характеризуется комплексным подходом к решению поставленных задач. Результаты диссертационного исследования получены с помощью современных методов исследования. Полученные результаты обработаны с применением общепринятых методов математической статистики, их достоверность подтверждена. Объем материала, использованный в исследовании, достаточен для получения достоверных результатов. Основные выводы, сформулированные автором, являются логически обоснованными, полученные данные сопоставлены с результатами других исследователей.

Результаты диссертационного исследования лягут в основу разработок новых вакцин против ВИЧ-1, а также будут расширены для создания животных моделей для оценки эффективности вакцин против других антропонозных заболеваний.

Общие замечания по диссертационной работе

Представленная работа не лишена ряда недостатков, к которым можно отнести:

- обилие очень схожих в написании аббревиатур, которые усложняют понимание текста диссертации;
- ряд рисунков (например, рисунки 24, 27, 30) содержит большое количество панелей, что усложняет восприятие результатов;
- в работе присутствует ряд опечаток и неточностей в формулировках

Указанные недостатки не снижают научной значимости диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Баюровой Екатерины Олеговны на тему: «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1», выполненная под руководством кандидата химических наук Беликовой-Исагулянц М.Г. и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной научной задачи – разработки модели для тестирования вакцин против ВИЧ-1 на малых иммунокомпетентных лабораторных животных, что имеет большое практическое и теоретическое значение и может способствовать значительному продвижению в этой области.

Диссертация Баюровой Е.О, полностью соответствует требованиям пункта 9. 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, а ее автор, Баюрова Екатерина Олеговна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Ученого совета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (протокол №3 от 07 сентября 2023 г.).

Заведующий лабораторией прикладной вирусологии
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова,
кандидат биологических наук



Файзулов Евгений Бахтиерович

e-mail: faizuloev@mail.ru
тел: +79091645277

Подпись кандидата биологических наук Файзулова Е.Б. заверяю.
Ученый секретарь ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
кандидат биологических наук



Алаторцева Г.И.

«2» сентября 2023 г.

Адрес: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный пер, дом 5А. Тел.: +7 (495) 917-49-00. Факс +7 (495) 917-49-00, <http://www.instmech.ru/>, e-mail: mech.inst@mail.ru