

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.255.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 30.10.2023 г. № 18

О присуждении Баюровой Екатерине Олеговне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1» по специальности 1.5.10. – «Вирусология» принята к защите 18.08.2023 г. (Протокол заседания № 12) диссертационным советом 24.1.255.01, созданным на базе ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Минобрнауки России (108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1), Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о выдаче разрешения на создание диссертационного совета №188 от 10 марта 2021 г. (с изменениями: Приказ № 127/нк от 15 июня 2023 г. Минобрнауки России).

Соискатель Баюрова Екатерина Олеговна, 08.12.1994 года рождения.

В 2018 году соискатель с отличием окончила ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», получив степень магистра по специальности 06.04.01 – «Биология». В 2021 году Баюрова Е.О. окончила очную аспирантуру по специальности 03.02.02. – «Вирусология» (Справка об окончании очной аспирантуры № 28 от 22 октября 2021 г. выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)).

Баюрова Е.О. работает научным сотрудником лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Диссертация выполнена в лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научный руководитель – кандидат химических наук Беликова-Исагулянц Мария Георгиевна, 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.

Официальные оппоненты:

Карпенко Лариса Ивановна – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

Евтушенко Екатерина Алексеевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры вирусологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Минобрнауки России г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Файзуловым Евгением Бахтиёровичем, кандидатом биологических наук, заведующим лабораторией молекулярной вирусологии, указала, что диссертация Баюровой Екатерины Олеговны на тему: «Экспериментальная модель для функциональной оценки иммунного

ответа на кандидатные ДНК-вакцины против ВИЧ-1» 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, 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».

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы все в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в библиографических базах – Web of Science, Scopus, PubMed.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. HIV-1 Reverse Transcriptase Promotes Tumor Growth and Metastasis Formation via ROS-Dependent Upregulation of Twist / Bayurova E., Jansons J., Skrastina D. [et al.]. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – Т. 2019. – С. 6016278. DOI: 10.1155/2019/6016278, (WoS, Scopus).

2. Cellular Immune Response Induced by DNA Immunization of Mice with Drug Resistant Integrases of HIV-1 Clade A Offers Partial Protection against Growth and Metastatic Activity of Integrase-Expressing Adenocarcinoma Cells / Isaguliantis M., Krotova O., Bayurova E. [et al.]. // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – № 6. – P. 1219. DOI: 10.3390/microorganisms9061219, (WoS, Scopus).

3. HIV-1 Protease as DNA Immunogen against Drug Resistance in HIV-1 Infection: DNA Immunization with Drug Resistant HIV-1 Protease Protects Mice from Challenge with Protease-Expressing Cells / Petkov S., Kilpeläinen A., Bayurova E., [et al.]. // *Cancers*. – 2022. – V. 15. – № 1. – P. 238. DOI: 10.3390/cancers15010238, (WoS, Scopus).

В опубликованных работах рассматривается создание консенсусных последовательностей обратной транскриптазы, интегразы и протеазы ВИЧ-1 субтипа А штамма FSU_A, а также выбор мутаций лекарственной устойчивости, характерных для территорий стран бывшего Советского Союза, создание субклонов клеточной линии 4T1uc2, кодирующих полученные консенсусные гены ферментов ВИЧ-1, описывается их туморогенный, миграционный и метастатический потенциал, описывается иммуногенность исследуемых ДНК-вакцинных конструкторов, а также эффективность индуцируемого ими иммунного ответа на основании кинетики отторжения опухолевых клеток в сингенных иммунокомпетентных мышах. Авторский вклад в опубликованных работах соискателя составляет около 70 %.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На автореферат диссертации поступило 5 положительных отзывов без критических замечаний от:

Нетёсова Сергея Викторовича, доктора биологических наук, профессора, академика РАН заведующего лабораторией бионанотехнологии, микробиологии и вирусологии факультета естественных наук Новосибирского государственного университета;

Малоголовкина Александра Сергеевича, кандидата биологических наук заведующего лабораторией молекулярной вирусологии Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет);

Филатова Александра Васильевича, доктора биологических наук, профессора, заведующего лабораторией иммунохимии ФГБУ Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России;

Стуковой Марины Анатольевны, кандидата медицинских наук, заведующего лабораторией векторных вакцин ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Анисенко Андрея Николаевича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования разработана оригинальная модель для тестирования вакцин против ВИЧ-1 на мышах, основанная на имплантации сингенных опухолевых линий экспрессирующих варианты обратной транскриптазы, интегразы и протеазы ВИЧ-1, в том числе с мутациями лекарственной устойчивости. С использованием модели показаны иммуногенные свойства кандидатных вакцин на основе трех ферментов ВИЧ-1.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в вопросах рассмотренной диссертации, большим опытом работы в изучении различных вопросов вирусологии, разработки новых вакцинных конструкторов и тестировании их иммуногенности, известностью специалистов и организации в области изучаемой проблемы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

на основе панели из 9 субклонов клеточной линии 4T11uc2, экспрессирующих ферменты ВИЧ-1, **разработана** новая модель для оценки эффективности терапевтических вакцин против ВИЧ-1 в иммунокомпетентных мышах,

введено понятие миграционного потенциала клеток в дистальные органы *in vivo* при характеристике клеточных линий, используемых в испытаниях эффективности терапевтических вакцин;

предложены методы оценки эффективности иммунного ответа в лабораторных животных по влиянию на метастатический и миграционный потенциал опухолевых клеток, исследованный в том числе методом *ex vivo* детекции биolumинесценции этих клеток в органах животных;

доказано, что иммунный ответ против лекарственно устойчивых вариантов обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 снижает

приживаемость, туморогенный, миграционный и метастатический потенциал экспрессирующих их субклонов высокотуморогенной клеточной линии, что говорит о возможности включения обратной транскриптазы и протеазы в состав прототипной терапевтической вакцины против ВИЧ-1;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что экспрессия обратной транскриптазы, интегразы и протеазы ВИЧ-1 принципиально не меняет туморогенный потенциал экспрессирующих их клеток, что обеспечивает возможность их адекватного использования для моделирования вирусной инфекции в мышцах;

применительно к проблематике диссертации **результативно использован** комплекс существующих методов исследования туморогенного потенциала и метастазирования, гистологических характеристик опухолей, а также иммунного ответа при ДНК-вакцинации;

изложена новая информация о влиянии мутаций лекарственной устойчивости на иммуногенность ферментов ВИЧ-1, в том числе показано, что мутация V82A в иммуногеном эпитопе протеазы ВИЧ-1 связана не только со снижением эффективности антиретровирусной терапии, но и с «иммунологическим бегством», что важно учитывать при разработке вакцин;

изучена кинетика формирования опухолей, экспрессирующих антигены ВИЧ-1, при имплантации 5×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 4×10^4 клеток на сайт введения;

раскрыто понятие терапевтическая вакцинация против ВИЧ-1: показано, что ДНК-иммунизация против лекарственно устойчивых вариантов ферментов ВИЧ-1 полностью или частично предотвращает формирование опухолей, при имплантации клеток, экспрессирующих соответствующий вариант лекарственно устойчивого фермента ВИЧ-1, что указывает на возможность применения терапевтической вакцинации не только для контроля над вирусемией, но и для предотвращения формирования лекарственно устойчивых форм вируса;

проведена модернизация существующих методов оценки иммунного ответа при доклинических испытаниях кандидатных терапевтических вакцин против ВИЧ-1

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

создана модель для доклинической оценки эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВИЧ-1 на иммунокомпетентных лабораторных мышцах;

определены основные параметры мониторинга эффективности индуцированного иммунного ответа для разработанной модели, такие как снижение приживаемости, снижение туморогенности, миграционного и метастатического потенциала клеток;

разработан и введен в практику работы лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «ФНЦИРИП им М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) метод оценки миграционного потенциал опухолевых клеток с использованием *ex vivo* детекции биолюминесценции этих клеток в органах животных;

представлены данные о релевантности разработанной модели при тестировании вакцинных конструкторов, индуцирующие различные типы иммунного ответа.

Данные, полученные с использованием разработанной модели о различной эффективности иммунного ответа в результате ДНК-иммунизации конструкторами, обладающими схожей иммуногенностью, определяют актуальность использования предложенной модели на ранних стадиях доклинических исследований вакцин против ВИЧ-1, что позволит существенно снизить стоимость и время разработки новых методов иммунопрофилактики и иммунотерапии ВИЧ-1 инфекции.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

для экспериментальных работ объем фактического материала является достаточным, методы статистической и компьютерной обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов, результаты воспроизводятся в различных условиях;

теория исследования построена на известных проверенных данных и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе теоретических и практических данных отечественных и зарубежных ученых в области моделей вирусных инфекций и доклинических испытаний вакцинных препаратов;

использована идея, применяемая ранее в создании моделей оценки эффективности вакцин против вируса папилломы человека;

установлено, что результаты исследований согласуются с результатами других авторов, представленных в независимых источниках, и существенно дополняют их.

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации. Представленный объем материала и качество проведенных исследований являются достаточными для решения поставленных задач и отвечают существующим требованиям, что позволяет рассматривать представленные результаты, научные положения, выводы и рекомендации как обоснованные и достоверные;

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведено планирование, организация всех этапов диссертационного исследования; определены цели и задачи, осуществлена систематизация и сбор первичных данных и их статистическая обработка. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях, подготовлены основные публикации по выполненной работе. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов. Автором сформулированы основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично выстроены на основе полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было.

На заседании 30.10.2023 г. диссертационный совет принял решение:

за успешное решение научной задачи по созданию экспериментальной модели для функциональной оценки иммунного ответа на кандидатные терапевтические вакцины против ВИЧ-1 на малых иммунокомпетентных лабораторных животных, описание основных параметров мониторинга данной модели, а также ее апробацию на панели ДНК-вакцинных конструктов, кодирующих лекарственно-устойчивые варианты ферментов ВИЧ-1, имеющие (в совокупности) существенное значение для развития биологической науки и, в частности, вирусологии, присудить Баюровой Е.О. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за - 14, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук

А.В. Белякова

«30» сентября 2023 года.