ОТЗЫВ

доктора биологических наук Исаевой Ольги Владиславовны на автореферат диссертации Авдошиной Дарьи Валерьевны «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Авдошиной Д.В. посвящена решению одной из наиболее значимых проблем современной онковирусологии — разработке и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против злокачественных новообразований, ассоциированных с вирусом папилломы человека 16 типа (ВПЧ16). Несмотря на существование профилактических вакцин, проблема лечения уже развившихся ВПЧ-ассоциированных опухолей (в частности, рака шейки матки, головы и шеи) остается нерешенной. Многочисленные кандидатные терапевтические вакцины, показывающие обнадеживающие результаты в доклинических испытаниях, демонстрируют низкую эффективность в клинических исследованиях. Это указывает на критическую необходимость пересмотра подходов к конструированию иммуногенов, оптимизации методов их доставки и, что особенно важно, к выбору адекватных доклинических моделей. В связи с этим тема диссертационного исследования, направленная на анализ изменчивости вирусных белков, разработку консенсусных иммуногенов и создание новой, более релевантной модели для тестирования кандидатных терапевтических вакцин, является чрезвычайно актуальной и своевременной.

. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и результатов

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов не вызывает сомнений. Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием широкого спектра современных методов молекулярной биологии, вирусологии и иммунологии, включая ПЦР-РВ, цифровую капельную ПЦР, лентивирусную трансдукцию, многопараметрическую проточную цитометрию, иммуноферментный анализ, а также методы *in vivo* визуализации (биолюминесцентный имеджинг) и гистологические исследования.

Цель работы соответствует поставленным задачам. Выводы и положения, выносимые на защиту, логично вытекают из полученных экспериментальных данных, аргументированы и статистически подтверждены. Использование адекватных статистических методов и корректный дизайн экспериментов на лабораторных животных (с соблюдением биоэтических норм) обеспечивают высокую достоверность результатов. Апробация работы на 14 международных и отечественных конференциях, а также публикации в научных журналах подтверждают достоверность полученных результатов.

Научная новизна результатов

Научная новизна диссертационного исследования несомненна и заключается в следующем:

1. Впервые проведен масштабный анализ изменчивости белков E6 и E7 изолятов ВПЧ16, циркулирующих в Европе и европейской части РФ, с выявлением региональных особенностей. Определены также наиболее вариабельные аминокислотные положения, локализованные в функционально значимых доменах белков E6 и E7 ВПЧ16.
2. Впервые эмпирически определено пороговое значение ионной силы буфера (81 ммоль/л), необходимое для эффективной доставки плазмидной ДНК *in vivo*, и проведено сравнение эффективности электропорации и сонопорации.
3. Впервые показано, что совместное введение ДНК-иммуногенов E6 и E7, даже в разные анатомические сайты, приводит к снижению иммунного ответа на E6. Установлено, что ДНК-иммунизация E7 индуцирует продукцию цитокина ФНО-α и вызывает образование воспалительных инфильтратов в печени, что свидетельствует о нецелесообразности использования данного иммуногена.
4. Впервые проведена детальная *in vitro* характеристика широко используемой модели TC-1/luc2 и показаны ее ограничения (отсутствие метастатического потенциала и иной профиль изоформ E6) для объективной оценки терапевтического потенциала кандидатных вакцин.
5. Впервые создана и охарактеризована новая модель на основе клеточной линии 4T1luc2, стабильно экспрессирующая E6 и E7 ВПЧ16, которая по уровням экспрессии E6 и E7, и паттернам распределения изоформ E6 имитирует естественно-инфицированные опухолевые клетки и позволяет оценивать как рост первичной опухоли, так и ее метастатическую активность.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в углублении понимания взаимодействии вирусных антигенов с иммунной системой и о факторах, определяющих эффективность терапевтических вакцин. Полученные данные о пороговой ионной силе буфера и оптимальных параметрах электропорации вносят вклад в развитие методологии доставки нуклеиновых кислот *in vivo*.

Практическая значимость работы не вызывает сомнений. Полученные данные по вариабельности E6 и E7 позволяют актуализировать дизайн иммуногенов с учётом региональной циркуляции изолятов ВПЧ16. Новая мышиная модель на основе клеток 4T1luc2, экспрессирующих E6 и E7 ВПЧ16, представляет собой ценный инструмент для доклинических испытаний, поскольку позволяет более строго и объективно отбирать перспективные вакцинные кандидаты, отсеивая заведомо неэффективные препараты на ранних этапах, что может повысить трансляционный потенциал исследований и снизить затраты на разработку. Практические рекомендации, сформулированные автором, могут быть использованы научными коллективами, работающими в области разработки терапевтических вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака.

Автореферат логично построен, иллюстрирован таблицами и рисунками, изложен ясным научным языком.

Положения диссертации соответствуют пунктам 4, 7, 10 и 11 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Существенных замечаний нет.

Заключение: учитывая актуальность, научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, диссертационная работа Авдошиной Дарьи Валерьевны на тему: «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой соответствует требованиям пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ (от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 426, от 11.09.2021 N 1539, от26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382, от 18.07.2026 №905 ред. от 18.07.2026 г.), предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям, а ее автор несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г. (ред. от 01.03.2024), необходимых для работы диссертационного совета 24.1.255.01

Ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
доктор биологических наук

«9» октября 2026 г. _____ О.В. Исаева

111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
телефон: 8 (495) 974-96-39
e-mail: isaeva.o@cmd.su

Подпись О. В. Исаевой удостоверяю:

Ученый секретарь ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора

_____ Т.С. Никитина