

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от «30» марта 2023г., № 10

О присуждении Рудаковой Анне Андреевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эффективность синтетических неоантигенных пептидов в модели персонализированной противоопухолевой вакцины» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия принята к защите 26 января 2023 года (протокол заседания №2) диссертационным советом 21.1.032.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, приказ о создании диссертационного совета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012 г., №561/нк от 03.06.2021 г.

Соискатель Рудакова Анна Андреевна, «26» июня 1993 года рождения.

В 2016 году соискатель окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина» по направлению подготовки «Биотехнология».

Работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей научно-исследовательского института (НИИ) экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

**Научный руководитель** – кандидат биологических наук Косоруков Вячеслав Станиславович, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, директор.

**Научный консультант** - доктор медицинских наук, доцент Титов Константин Сергеевич, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы, ведущий научный сотрудник.

**Официальные оппоненты:**

Боженко Владимир Константинович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научно-исследовательский отдел молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, заведующий;

Уласов Илья Валентинович, доктор биологических наук, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), институт регенеративной медицины, отдел современных биоматериалов, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы о диссертации.

**Ведущая организация:** Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Сергеевой Натальей Сергеевной, доктором медицинских наук, профессором, заведующей отделением прогноза эффективности консервативного лечения, указала, что диссертационная работа Рудаковой Анны Сергеевны «Эффективность синтетических неоантигенных пептидов в модели персонализированной противоопухолевой вакцины» является завершённой, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная проблема разработки подходов к созданию персонализированных неоантигенных пептидных вакцин, которые в дальнейшем могут применяться для терапии меланомы человека. По новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертация соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Соискатель имеет 3 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы.

В опубликованных работах отражены основные результаты проведенного исследования: показана противоопухолевая эффективность моделей персонализированной противоопухолевой вакцины из синтетических неоантигенных пептидов и адьюванта на экспериментальных животных,

подтверждена иммуногенность синтетических неоантигенных пептидов, входящих в состав вакцины, и показан вклад адьюванта в развитие ответа на иммунизацию моделями вакцины, что в итоге подтверждает эффективность разработанного подхода и в дальнейшем научные работы соискателя будут применены для разработки персонализированных неоантигенных вакцин для терапии опухолей человека.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 70%, объем научных изданий составляет 0,92 печатных листов. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. Пономарев, А.В. Влияние Poly(I:C) и меланомы B16-F10 на иммунофенотип клеток селезенки мышей / А.В. Пономарев, А.А. Рудакова, З.А. Соколова, М.А. Барышникова, В.С. Косоруков // Российский биотерапевтический журнал. — 2021. — Т. 20. — №4. — С. 51-58.

2. Рудакова, А.А. Оценка иммуногенности синтетических неоантигенных пептидов для модели противомеланомной вакцины / А.А. Рудакова, М.А. Барышникова, З.А. Соколова, О.С. Бурова, Е.Н. Кособокова, В.С. Косоруков // Российский биотерапевтический журнал. — 2021. — Т. 20. — №2. — С. 61-68.

3. Барышникова, М.А. Оценка противоопухолевой эффективности синтетических неоантигенных пептидов для создания модели противомеланомной вакцины / М.А. Барышникова, А.А. Рудакова, З.А. Соколова, О.С. Бурова, Е.Н. Кособокова, В.С. Косоруков // Российский биотерапевтический журнал. — 2019. — Т.18. — №4. — С. 76-81.

**На диссертацию и автореферат поступил отзыв из:**

федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, г. Москва. Отзыв подписан Николаевой

Ириной Александровной доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником отдела планирования и координации научных исследований. В отзыве указано, что диссертационная работа Рудаковой Анны Андреевны «Эффективность синтетических неоантигенных пептидов в модели персонализированной противоопухолевой вакцины» является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача, имеющая важное значение для разработки подходов к персонализированной иммунотерапии онкологических заболеваний. Диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия;

Института онкологии Хадасса, филиала компании с ограниченной ответственностью «Хадасса Медикал Лтд», г. Москва. Отзыв подписан Утяшевым Игорем Агльмовичем кандидатом медицинских наук, врачом-онкологом, лидером группы по меланоме, опухолям кожи и саркомам, директором отдела клинических исследований ГК Медскан. В отзыве указано, что диссертационная работа Рудаковой Анны Андреевны «Эффективность синтетических неоантигенных пептидов в модели персонализированной противоопухолевой вакцины» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача, разработаны подходы к персонализированной вакцинотерапии злокачественных опухолей. Диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта

2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем,** что Боженко Владимир Константинович, доктор медицинских наук, профессор, и Уласов Илья Валентинович, доктор биологических наук, выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, являющихся экспертами по специальности диссертации, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.

Ведущая организация, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, выбрана, как широко известный своими достижениями в области клинической онкологии институт, способный определить научную и практическую ценность диссертации, и имеющий ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработана** новая экспериментальная методика для изучения эффективности синтетических неоантигенных пептидов, полученных в результате полноэкзомного секвенирования и биоинформатического анализа меланомы B16-F10, и адъюванта Poly(I:C), в модели персонализированной противоопухолевой вакцины;

**предложен** подход к оценке иммуногенности и противоопухолевой эффективности персонализированных неоантигенных пептидных вакцин с

адьювантом;

**доказано**, что модель неоантигенной пептидной вакцины, содержащая смесь нескольких пептидов в комбинации с адьювантом, оказывает более выраженный противоопухолевый эффект, по сравнению с моделью вакцины, содержащей только один пептид с адьювантом;

**введен** в практику научных исследований новый алгоритм оценки иммуногенности и противоопухолевой эффективности синтетических неоантигенных пептидов и адьюванта в модели персонализированной противоопухолевой вакцины.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказано**, что модели вакцины, содержащие смеси 5-6 синтетических неоантигенных пептидов и адьювант Poly(I:C), вызывают специфическую стимуляцию клеточного иммунного ответа, выражающуюся увеличением количества интерферон-гамма-продуцирующих спленоцитов у иммунизированных мышей.

Применительно к проблематике диссертации результативно **использованы** методы ELISPOT и ELISA для оценки иммуногенности пептидов и адьюванта, проточная цитометрия для исследования влияния на иммунофенотип спленоцитов Poly(I:C), а для изучения противоопухолевого эффекта применены такие критерии оценки, как торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни;

**изложены** доказательства противоопухолевой эффективности моделей вакцины, содержащих смесь пептидов и адьювант, показано, что четырехкратная иммунизация моделями вакцины, содержащими смеси пептидов и адьювант Poly(I:C), эффективнее замедляет рост меланомы мышей по сравнению с двукратной иммунизацией;

**раскрыты** новые данные, подтверждающие иммуногенность адьюванта Poly(I:C): иммунизация адьювантом мышей с подкожно перевитой меланомой B16-F10 приводит к увеличению количества Т-лимфоцитов, в том числе наивных CD4 и CD8 клеток, что может дать преимущество в борьбе

иммунитета против опухолей, иммунный надзор за которыми осуществляется Т-клетками. Адъювант Poly(I:C) и опухолевая нагрузка B16-F10 изменяют ряд параметров иммунофенотипа спленоцитов мышей: иммунорегуляторный индекс CD4/CD8, количество CD69+CD4+ и CD69+CD8+ Т-клеток, количество В- и NK-клеток;

**изучены** факторы, вносящие вклад в развитие противоопухолевого ответа на иммунизацию моделями вакцины, содержащими синтетические неоантигенные пептиды, показана необходимость использования адъюванта для усиления эффективности противоопухолевых неоантигенных пептидных персонализированных вакцин;

**проведена модернизация** алгоритма оценки иммуногенности и противоопухолевой эффективности моделей персонализированных неоантигенных пептидных вакцин, обеспечивающая получение новых результатов по теме диссертации.

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

**разработаны и внедрены** в практическую деятельность ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России новые универсальные алгоритмы оценки иммуногенности и противоопухолевой эффективности синтетических неоантигенных пептидов в моделях персонализированных вакцин;

**определены** перспективы практического применения полученных результатов для усовершенствования подходов к персонализированной вакцинотерапии опухолей с использованием неоантигенных пептидных вакцин для терапии меланомы человека;

**создана** модель эффективной персонализированной неоантигенной пептидной вакцины против мышшиной меланомы B16-F10;

**представлены** предложения по дальнейшему совершенствованию персонализированных неоантигенных пептидных противоопухолевых вакцин.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**



работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и основана на большом экспериментальном материале (404 инбредных мышей самок (n=234) и самцов (n=170) линии C57Bl/6). Примененные методики оценки эффективности моделей вакцины соответствовали поставленным цели и задачам.

**Теория** построена на известных проверенных данных, о том, что злокачественные новообразования содержат мутантные опухолевые неоантигены, отсутствующие в нормальных тканях, которые могут быть мишенями для иммунной системы. Неоантигены являются индивидуальными для каждой конкретной опухоли и поэтому могут быть эффективно использованы только в персонализированной терапии.

**Идея базируется** на анализе данных о способности синтетических неоантигенных пептидов при использовании с адьювантом, агонистом TLR-3, усиливать иммунный ответ против неоантигенов опухоли. В диссертационной работе исследована иммуногенность и противоопухолевая эффективность 43 синтетических неоантигенных пептидов к мутантным эпитопам мышинной меланомы B16-F10, синтезированных для создания прототипа модели персонализированной неоантигенной противоопухолевой вакцины. Для выбора пептидов, используемых в исследовании, был проведен поиск соматических мутаций, которые присутствуют только в образцах опухолей и не найдены в образцах нормальной ткани, при этом гены, несущие данные мутации, экспрессируются в образцах опухоли.

**Использованы** современные литературные данные доклинических и клинических исследований персонализированных неоантигенных вакцин для лечения меланомы, подтверждающие эффективность подхода, примененного в диссертационной работе.

**Установлено** что иммунизация моделью вакцины, содержащей смесь нескольких пептидов, обладает более выраженным противоопухолевым эффектом, по сравнению с иммунизацией моделью вакцины, содержащей только один пептид. Литературными данными подтверждается, что

гетерогенность опухоли предполагает необходимость нацеливания на все мутантные неоантигены, обнаруженные в опухоли, для получения эффективного противоопухолевого ответа.

**Использованы** современные методики сбора и статистической обработки информации. Анализ экспериментов по оценке иммуногенности проводили с использованием программ Excel и GraphPad Prism 5.0, результаты сравнивали с помощью непарного t-теста. Для статистического анализа данных проточной цитометрии и оценки противоопухолевого эффекта использовали критерий Манна – Уитни и применяли программу STATISTICA v.7. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Личный вклад соискателя состоит в** проведении тщательного анализа научной литературы по проблеме противоопухолевой вакцинотерапии и применения неоантигенов в качестве мишеней для иммунотерапии злокачественных опухолей; разработке дизайна и этапов работы; проведении экспериментов с применением современных методов оценки эффективности синтетических пептидов и статистических методов исследования; публикации результатов исследования и их представление на научных конференциях. Совокупность сформулированных в диссертации научных положений вносит весомый вклад в развитие противоопухолевой персонализированной иммунотерапии с применением синтетических неоантигенных пептидов.

Соискатель Рудакова Анна Андреевна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании «30» марта 2023 года диссертационный совет принял решение: за решение актуальной задачи – исследования иммуногенности и противоопухолевой эффективности синтетических неоантигенных пептидов в модели персонализированной противоопухолевой вакцины, имеющей важное значение для развития онкологии, присудить Рудаковой Анне Андреевне ученую степень кандидата биологических наук.

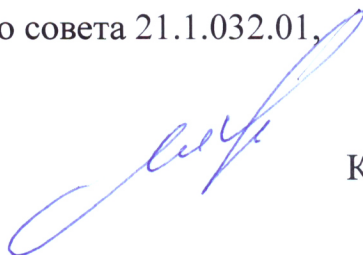
При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 3.1.6.

Онкология, лучевая терапия «биологические науки», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 17, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председательствующий

диссертационного совета 21.1.032.01,

д.б.н., профессор



Красильников Михаил Александрович

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.1.032.01,

д.м.н., профессор

30 марта 2023 г.



Кадагидзе Заира Григорьевна