

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Харит Сусанны Михайловны на диссертационную работу Гордейчука Ильи Владимировича на тему: «Экспериментальная модель для оценки специфической активности противовирусных вакцин на основе лабораторных приматов вида *Callithrix jacchus*», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность избранной темы

Актуальность темы определяется необходимостью оценки безопасности и эффективности вакцин на доклиническом этапе максимально отражающей возможные реакции у человека. Основной животной моделью при лабораторных исследованиях являются мыши благодаря простоте обращения, низкой стоимости и доступности разнообразных генетически модифицированных штаммов. Вклад мышинных моделей в исследования инфекционных заболеваний, реакции на различные патогены заложили основу для быстрой и доступной разработки методов лечения и вакцин. Однако различия в анатомии и иммунных реакциях между человеком и мышью, а также инбредный характер многих линий мышей представляют собой некоторые дополнительные недостатки моделирования человеческих реакций на грызунах.

В тоже время, не все проблемы могут быть решены с помощью мышинной модели и выявляются уже в пострегистрационном периоде, например, антителозависимое усиление инфекции, описанное для вакцин против денге. Необходимость модели на высших животных, таких как нечеловеческие приматы обусловлена тем, что они очень похожи на человека по генетике, физиологии и иммунологии. Подобные исследования на макаках-резус проводились исторически для полиомиелитных вакцин, а в последнее время для оценки защитной эффективности вакцин Pfizer, Moderna, Johnson & Johnson (Janssen) и AstraZeneca против SARS-CoV-2. С точки зрения тестирования вакцин результаты, полученные на макаках, в целом соответствуют результатам третьей фазы клинических испытаний на людях и реальному опыту применения одобренных вакцин. В связи с развитием производства биотехнологических продуктов и широким применением генной терапии увеличилось использование нечеловекообразных приматов в доклинических исследованиях.

Обыкновенные марьшишки или игрунка обыкновенная (*Callithrix jacchus*), самые маленькие приматы в Новом Свете, несмотря на миллионы

лет эволюционного расхождения, представляют огромный интерес для биологии и медицины благодаря наличию генетического и физиологического сходства с человеком. Геном этого вида расшифрован. По своей анатомии и физиологии они ближе к высшим приматам, чем грызуны, поэтому рассматриваются, как модельные животные для изучения неврологических, фармакологических и генетических процессов (например, болезней Паркинсона или рассеянного склероза), а также для оценки эффективности вакцин и противовирусных препаратов. Для проведения доклинических исследований нередко возникает необходимость воспроизводства животных. Для осуществления доклинических исследований важен процесс воспроизводства животных в лабораторных условиях, обеспечение благополучия здорового потомства разработка адекватных методов исследования в ходе изучения вакцин, которые могли бы ответить на вопрос эффективности и безопасности для человека.

Это определило цель и задачи исследования.

Целью диссертационного исследования являлось разработать и охарактеризовать экспериментальную модель для оценки специфической активности противовирусных вакцин на основе приматов вида обыкновенная игрунка (*Callithrix jacchus*), родившихся и постоянно содержащихся в лабораторных условиях.

В задачи входило

1. Установить референсные значения основных гематологических и биохимических показателей крови лабораторных обыкновенных игрунок, оцениваемых при проведении доклинических исследований противовирусных вакцин.

2. Провести гистологическую характеристику лимфоидных органов лабораторных обыкновенных игрунок в норме, а также в ходе формирования поствакцинального иммунного ответа.

3. Разработать методики комплексной оценки специфического поствакцинального локального мукозального, системного гуморального и Т-клеточного адаптивного иммунного ответа у обыкновенных игрунок.

4. Исследовать параметры специфической активности и безопасности, инактивированной цельновирионной коронавирусной вакцины КовиВак, а также интраназальной и внутримышечной формы аденовирусной векторной вакцины против COVID-19 Спутник V на лабораторных обыкновенных игрунках.

5. Исследовать долгосрочное созревание иммунитета, сформированного в результате внутримышечного или интраназального введения лабораторным

обыкновенным игрункам аденовирусной векторной вакцины против COVID-19.

6. Оценить восприимчивость обыкновенных игрунок к заражению вирусом гепатита E генотипов 1 и 3.

7. Провести оценку протективной активности кандидатного вакцинного препарата на основе рекомбинантного капсидного белка вируса гепатита E в эксперименте с заражением лабораторных обыкновенных игрунок вирусом гепатита E.

Научная новизна и практическая значимость исследований

Впервые с использованием проточной цитофлуориметрии проведен анализ возрастных изменений субпопуляционного состава и степени созревания лимфоцитов периферической крови обыкновенных игрунок, что позволит оценивать возрастные особенности иммунного ответа на вакцины в зависимости от возраста привитых.

Впервые в эксперименте протяженностью более двух лет у лабораторных игрунок обыкновенных проведена оценка влияния пути введения аденовирусной векторной вакцины против COVID-19 на эффективность созревания аффинности специфических поствакцинальных антител и кросс-вариантная вируснейтрализующая активность специфических поствакцинальных антител, индуцированных в результате внутримышечного, но не интраназального введения аденовирусной векторной вакцины против COVID-19.

Впервые в эксперименте с детекцией репликативной формы вирусного генома проведено исследование локализации репликации генома вируса гепатита E в организме игрунок обыкновенных и оценка их восприимчивости к генотипу 3 вируса гепатита E.

Впервые проведена оценка протективной активности кандидатного вакцинного препарата против вирусного гепатита E при экспериментальном заражении вирусом гепатита E генотипов 1 и 3 игрунок обыкновенных.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность полученных результатов и сформулированных положений определяется тем, что при общей длительности исследований более 10 лет были использованы, как рутинные клинические методы (термометрия, измерение массы тела, гематологический и биохимический анализ крови, оценка общего состояния здоровья животных, получение биоматериала и т.д.), так и самые современные методы

иммунологические (иммуноферментный анализ, проточная цитометрия, лимфопролиферативный тест), вирусологические (выделение вируса из биологического материала, амплификация участков вирусного генома с помощью полимеразной цепной реакции, серологические (оценка титра вируснейтрализующих антител в сыворотке крови животных на культуре клеток и т.д.), а также методы молекулярной биологии (молекулярное клонирование, получение и очистка рекомбинантного белка, геномное секвенирование). Статистический анализ данных проведен с использованием параметрических и непараметрических методов. Протоколы всех исследований с применением лабораторных животных были одобрены Этическим комитетом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты работы расширяют представления о физиологии иммунной системы приматов. Установлены референсные значения основных иммунологических, гематологических и биохимических показателей крови лабораторных обыкновенных игрунок, необходимые при проведении доклинических исследований противовирусных вакцин, поскольку показан высокий уровень сходства иммунной системы с человеческой, как по функциональным, так и по гистологическим показателям до и в поствакцинальном периоде. Разработаны методики комплексной оценки специфического поствакцинального локального мукозального, системного гуморального и Т-клеточного иммунного ответа в ходе проведения доклинических исследований трех кандидатных противовирусных вакцин: инактивированной и аденовирусной векторной вакцин против COVID-19 (при разных путях введения).

Установлено, что в течение двух лет после введения аденовирусной векторной вакцины Спутник V в сыворотке крови обыкновенных игрунок, содержащихся в изолированных условиях, непрерывно повышались титры вируснейтрализующих антител не только против гомологичного варианта SARS-CoV-2 B.1.1.1 (WuhanHu-1), но также против гетерологичных вариантов B.1.617.2 (дельта) и B.1.1.529.5 (омикрон BA.5), не циркулировавших на момент вакцинации, что позволяет сохранять рекомендации по применению указанной вакцины, как это предусмотрено в действующем календаре прививок по эпидемическим показаниям.

Для кандидатного вакцинного препарат р551 на основе белка OPC2 BGE продемонстрирована выработка специфических анти-BGE IgG антител и

защита от гепатита Е при экспериментальном заражении ВГЕ гомологичного и гетерологичного генотипа.

Краткая характеристика основного содержания диссертации

Диссертация написана не совсем традиционно, состоит из следующих глав: введение, 4 главы результатов собственных исследований, в каждой из которых имеется обзор литературы, материалы и методы, статистика, применявшаяся к данным, разбираемым в конкретной главе, описание результатов, обсуждение и заключение по главе.

Глава 1 «Оптимизации условий длительного содержания, разведения и мониторинга состояния здоровья обыкновенных игрунок в вирусологической лаборатории». Глава 2. «Разработке методик оценки специфического поствакцинального Т-клеточного и локального мукозального иммунного ответа у обыкновенных игрунок». Глава 3. «Использование обыкновенных игрунок в доклинических исследованиях безопасности и специфической активности профилактических вакцин против COVID-19». Глава 4. «Экспериментальное моделирование инфекции, вызываемой вирусом гепатита Е, и оценка специфической активности кандидатной рекомбинантной вакцины против вирусного гепатита Е на обыкновенных игрунках», обсуждение, выводы и практические рекомендации. Кроме того, имеется общее заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, благодарности и указатель списка литературы, включающий: иллюстративный материал который представлен в достаточном количестве и включает 28 рисунков и 19 таблиц. Список литературы содержит 260 источников.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты работы обосновали адекватность модели и ее применение для оценки безопасности и эффективности вакцин против коронавируса и гепатита Е. Результаты исследования вошли в состав регистрационных досье и в совокупности с данными, полученными на лабораторных грызунах и кроликах, послужили основанием для перехода к I–II фазе клинических исследований вакцин против коронавирусной инфекции (Ковивак и Гам-КОВИД-Вак). Полученные данные по возрастным характеристикам иммунного ответа обыкновенной игрунки позволяют в дальнейшем проводить оценку возрастной эффективности и безопасности вакцин, что необходимо для реализации программы «вакцинация на протяжении жизни».

Продемонстрированная эффективность кандидатной вакцины против гепатита Е является важным фундаментальным и практическим достижением, поскольку, в настоящее время, в мире лицензирована только одна вакцины HEV 239 (Hecolin), производимая и используемая в Китае, в то время как по данным ВОЗ численность случаев острого гепатита Е оценивается на уровне 19,47 млн. в года, на долю ВГЕ приходится 5,4% глобального показателя, утраченных лет жизни в результате вызванной острыми гепатитами инвалидности и смерти.

Материалы диссертации включены в лекции и практические занятия с обучающимися на кафедре организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в рамках трех курсов: «Основы работы с лабораторными животными», «Методы оценки эффективности и безопасности иммунобиологических препаратов».

Соответствие диссертации паспорту специальности

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 6: Проблемы патогенности вирусов, цитопатологии инфицированных вирусом клеток и тканей, изучение патогенеза вирусных инфекций, путей проникновения вируса в организм и распространения вирусов в организме; 7: Изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного иммунитета и иммунопатологических реакций и 11: Противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение. Вирусные вакцины, в том числе живые (аттенуированные), инактивированные, субъединичные, рекомбинантные (реплицирующиеся и нереплицирующиеся), векторные и вакцины на основе вирусоподобных частиц – паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные материалы работы доложены и обсуждены на 12 международных и отечественных конференциях вирусологического и медико-биологического профиля. По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 печатных работ, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus, из них 13 - входящих в

перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК для публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, глава в монографии – 1.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат полностью отражает основные положения и содержание диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Достоинством в содержании и оформлении диссертации является применение современных методов исследования и статистики, позволивших сделать достоверными выводы при небольшой группе исследуемых, большое количество наглядного материала в виде таблиц и графиков, облегчающих восприятие результатов.

При чтении диссертации возникли вопросы:

1. Является ли разработанная модель эффективной только для изучения вирусных вакцин или может быть использована при изучении вакцин бактериальных?

2. Достаточно ли числа приматов, включенных в исследование при изучении новых вакцинных антигенов, или это зависит от изучаемого антигена?

Заключение

Не смотря на имеющиеся вопросы, диссертационная работа Гордейчука Ильи Владимировича на тему: «Экспериментальная модель для оценки специфической активности противовирусных вакцин на основе лабораторных приматов вида *Callithrix jacchus*» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.10. Вирусология является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение – создание модели для проведения иммунобиологических исследований, что имеет важное научно-практическое значение для вирусологии, иммунологии, вакцинопрофилактики. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук согласно пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней»,

утвержденным Постановлением Правительства 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 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 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 с изменениями от 01.01.2025 г.), а её автор Гордейчук Илья Владимирович достоин присуждения искомой учёной степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Согласна 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 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д 21.1.017.01

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий
отделом вакцинопрофилактики и поствакцинальной
патологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический
центр инфекционных болезней ФМБА»

e-mail: kharit-s@mail.ru

тел. +7 (812) 234-68-55



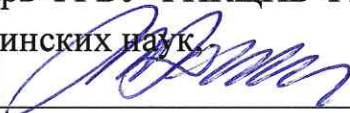
Харит Сусанна Михайловна

Подпись д.м.н., проф. Харит С.М. заверяю.

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦИБ ФМБА России

кандидат медицинских наук,

доцент



Волжанин Валерий Михайлович



2026 года

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» Адрес: ул. Профессора Попова, 9, Санкт-Петербург, 197022, Телефон: 8 (812) 234-60-04
Адрес эл.почты: info@fnkcib.ru