

ОТЗЫВ

официального оппонента руководителя отдела профилактики инфекционных заболеваний ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», доктора медицинских наук, профессора Харит Сусанны Михайловны на диссертационную работу Хантимировой Лейсан Маратовны на тему «Получение хитозана, его производных, изучение их физико-химических характеристик и иммуноадьювантной активности в составе инактивированных вакцин против гриппа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 - вирусология» и 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертационного исследования

Вакцинация против гриппа рассматривается, как основное средство предупреждения ежегодных вспышек, эпидемий и пандемий. Об этом свидетельствует большое разнообразие вакцин, производимых в мире, однако ВОЗ считает, что в случае пандемии возможна нехватка вакцин из-за невозможности в сжатые сроки произвести большое количество антигенов. Поэтому, как вариант получения большего числа доз вакцины рассматривается создание препаратов с уменьшенной антигенной нагрузкой, но с наличием адьюванта, который мог бы способствовать увеличению продукции антител. Использование адьювантов является и решением проблемы увеличения эффективности сезонных вакцин против гриппа, применяемых для людей со сниженным иммунным ответом, в частности лиц старше 65 лет, маленьких детей, людей с иммунодефицитными состояниями, которые являются группами, подлежащими вакцинации против гриппа в первую очередь.

В настоящее время, поиски адьювантов для профилактических, а также лечебных вакцин являются одним из ведущих направлений в производстве вакцин, проводится оценка адьювантных свойств различных соединений, включая иммуномодуляторы, эмульсии, микро/наночастиц, а также их различные комбинации. Несмотря на широкое разнообразие изучаемых соединений, обладающих адьювантными свойствами, выбор адьювантов для вакцин, сложен, так как препарат должен быть не только эффективным, но

отвечать высоким требованиям безопасности и переносимости. До настоящего времени в реальную практику производства вакцин после открытия адъювантных свойств солей алюминия в начале 20 века, вошло лишь 3-4 новых вещества.

В связи с этим актуальность диссертационной работы Хантимировой Лейсан Маратовны по получению производных хитозана с различными физико-химическими характеристиками и изучению их адъювантных свойств в составе экспериментальных моновалентных инактивированных вакцин против гриппа не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, новизны и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автор справедливо отмечает, что во многих биомедицинских исследованиях физико-химические характеристики хитозана и методы их определения не указываются, и это, в свою очередь приводит к тому, что результаты биологической активности биополимера невоспроизводимы. До настоящего времени полноценное научное объяснение адъювантных свойств хитозана в зависимости от физико-химических характеристик отсутствует, дискутируется вопрос о том, что адъювантные свойства присущи именно биополимеру, а не примесям в виде остаточного белка и эндотоксинов в его составе. Сравнительные исследования препаратов на основе хитозана и его производных с другими адъювантами также ограничены. Для того, чтобы использовать хитозан и его производные в качестве адъюванта в вакцинных препаратах или в системах доставки лекарственных средств необходимо тщательное изучение характеристик выбранного хитозана и уверенность в воспроизводимости результатов. В связи с этим цель работы и задачи исследования представляются актуальными. Положения, выносимые на защиту, полностью отражены в материалах диссертации. Основное

содержание диссертационной работы позволяет решить поставленную автором проблему.

Автором впервые проведено развернутое исследование адъювантных свойств хитозана и его производных с различными физико-химическими характеристиками при добавлении к моновалентным инактивированным вакцинам против гриппа в рамках прямых сравнительных исследований. Исследуемые образцы биополимера - хитозана были охарактеризованы по молекулярной массе, степени деацетилирования, индексу полидисперсности, а также по содержанию остаточного и белка и эндотоксинов. Получены данные о том, что физико-химические характеристики хитозана определяют его адъювантные свойства. Впервые показано, чем выше молекулярная масса и степень деацетилирования хитозана, тем более выражены адъювантные свойства биополимера в составе экспериментальных инактивированных моновалентных цельновирионных вакцин для профилактики гриппа. Впервые показано различие в иммуногенности и защитных свойствах экспериментальной вакцины против гриппа с адъювантом хитозаном с ММ 700 кДа (высокомолекулярный), СД 85% и ММ 10 кДа (низкомолекулярный), СД 85%. Адъювантные свойства хитозана превышают таковые гидроксида алюминия, и сравнимы с адъювантами с иммуномодулирующими свойствами в виде суспензии и эмульсии на основе сквалена и токоферола. В результате проведенной работы выбран высокомолекулярный хитозан с ММ 700 кДа, СД 85%, с наиболее выраженными адъювантными свойствами в составе инактивированных вакцин против гриппа свиного происхождения, птиц и человека. Впервые показано, что производное хитозана – сукциноил-хитозан с различной степенью замещения 25, 50 и 75% не обладает адъювантными свойствами при добавлении к инактивированным вакцинам против гриппа.

Достоверность результатов проведенной научной работы заключается в использовании современных методов исследования, статистической обработке полученных результатов экспериментов. Важно отметить, что оценка иммуногенности исследуемых вакцин проводилась с использованием

реакции торможения гемагглютинации, реакции нейтрализации и иммуноферментного анализа

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Полученные автором в ходе работы результаты научного обоснования адъювантной активности хитозана с различными физико-химическими характеристиками в составе инактивированных цельновирионных моновалентных вакцин против гриппа человека и животных и влияния молекулярной массы и степени деацетилирования хитозана на его адъювантные свойства необходимы для дальнейших исследований механизмов иммунологического действия хитозана в качестве адъюванта, характеристики профиля иммунного ответа и иммунофенотипа, оценки соотношения «доза-эффект» путем изучения эффекта комбинации различных доз адъюванта с различными дозами антигена. Представляется перспективным проведение доклинических исследований эффективности и безопасности адъюванта хитозана в составе различных типов вакцин против различных типов антигенов.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По материалам диссертации подготовлено и опубликовано 20 печатных работ, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата наук (3 из них – первый автор). Получено 2 патента Российской Федерации на изобретение. Основные результаты доложены и обсуждены на ведущих международных и российских научно-практических конференциях.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Предложен адъювант на основе хитозана с ММ 700 кДа, СД 85% для вакцин против гриппа различного происхождения. В перспективе он может найти применение не только при изготовлении вакцин против гриппа и других актуальных инфекционных агентов человека, а также может быть востребован в производстве ветеринарных вакцин. Возможность модификаций хитозана, благодаря наличию реакционноспособных групп, и как следствие, управление характеристиками хитозана в соответствии с поставленной задачей позволит разработать универсальный адъювант или адаптировать под конкретную вакцину. Полученные образцы хитозана, охарактеризованные по ММ, СД и ИП, а также по уровню примесей: остаточного белка и эндотоксинов могут быть использованы в других биомедицинских исследованиях.

Структура и объем работы

Диссертационная работа построена традиционно, состоит из введения, обзора литературы, раздела «Материалы и методы исследования», 3 глав с результатами собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы (63 источника, среди которых 21 – отечественные). Она изложена на 84 страницах машинописного текста, включая 13 таблиц и 16 рисунков.

Замечания по диссертационной работе нет

Вопросы к соискателю:

1. Под иммуногенностью обычно понимают иммунный ответ на антиген. Вы пишете везде иммуногенность хитозана (производных), при этом говорите, что он работает, как адъювант, т.е. создает «депо». Что Вы вкладываете в понятие иммуногенность хитозана?

Каким Вы представляете все же механизм действия хитозана и его производного с ММ 700 кДа, СД 85%: создание «депо» антигена? или же активация АПК, формирование инфломассомы и т.п.?

2. Как Вы оценивали безопасность хитозана и его производных при проведении вакцинации животных?
3. Не могли бы Вы сформулировать что нового внесло Ваше исследование по эффективности хитозана при иммунизации против гриппа, по сравнению с проводившимися в мире ранее?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Хантимировой Лейсан Маратовны «Получение хитозана, его производных, изучение их физико-химических характеристик и иммуноадъювантной активности в составе инактивированных вакцин против гриппа», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 - вирусология и 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача, имеющая важное значение в области развития отечественного здравоохранения.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Хантимирова Лейсан Маратовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 - вирусология и 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент:

руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний
Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» доктор медицинских наук по специальности инфекционные болезни, профессор Харит Сусанна Михайловна

Подпись Харит С.М. заверяю: *Егорова Лариса Яковлевна*

Должность *Зав. канцелярией*

Адрес учреждения 197022, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова д.9

Телефон 8-812-234-60-04, e-mail niidi@niidi.ru, сайт niidi.ru

