

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

федерального государственного бюджетного
учреждения «Национальный исследовательский
центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
доктор биологических наук, профессор,
академик РАН
Гинцбург А.Л.



ОТЗЫВ

ведущего учреждения, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, о научно-практической значимости диссертационной работы **Хантимировой Лейсан Маратовны** «Получение хитозана, его производных, изучение их физико-химических характеристик и иммуноадьювантной активности в составе инактивированных вакцин против гриппа», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 – вирусология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), представленной к защите в диссертационный совет Д 001.043.01 при ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Актуальность темы выполненной работы.

Грипп остается одним из массовых инфекционных заболеваний. Вирус гриппа не имеет особенностей распространения по территориальным границам и характеризуется абсолютной восприимчивостью всех возрастных групп населения. Эпидемии гриппа приводят к росту числа госпитализаций, тяжелых форм, осложнений и летальных исходов, особенно среди групп

риска. Эпидемии и пандемии гриппа трудно прогнозируемы по срокам и продолжительности, направлению развития, доминированию того или иного типа/подтипа вируса, вовлеченности групп населения, готовности медицинских служб, что, в свою очередь, обуславливает необходимость разработки и практического внедрения эффективных и безопасных вакцин, что нашло отражение в последнем документе ВОЗ – Глобальной стратегии по гриппу на 2019-2030 гг.

Включение адъювантов в состав вакцин является одним из подходов совершенствования гриппозных вакцин. Адъювант позволяет повысить иммуногенность вакцин, снизить дозы антигена, сократить число вакцинаций, повысить иммунный ответ у лиц, входящих в группы риска, а также оптимизировать профиль иммунного ответа. В настоящее время активно изучают различные адъюванты на основе минеральных солей и оснований, суспензий и эмульсий, препараты прямого иммуномодулирующего действия и др.

В последние годы отмечается значительный интерес к исследованиям адъювантных свойств биополимера – хитозана. Сочетание уникальных свойств хитозана, таких как, биосовместимость, биodeградируемость, низкая токсичность, а также мукоадгезивность позволяет рассматривать его как перспективный объект для биомедицинских исследований. Однако остается ряд вопросов, требующих дальнейших исследований его свойств, в частности, связи физико-химических характеристик биополимера и его адъювантных свойств в составе вакцин, а также сравнение с другими используемыми на практике адъювантами.

Диссертационная работа Хантимировой Лейсан Маратовны посвящена получению хитозана и его производных с различными физико-химическими характеристиками, изучению их адъювантных свойств в составе экспериментальных моновалентных гриппозных инактивированных вакцин к вирусам гриппа человека и птиц.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна.

Рассматриваемая диссертация содержит новые данные, полученные с помощью вирусологических, культуральных, иммунологических и физико-химических методов.

Автором получены образцы хитозана с различными физико-химическими характеристиками с использованием методов ферментативного, кислотного гидролиза и реацетилирования. Образцы хитозана охарактеризованы с использованием современных физико-химических методов анализа: протонного магнитного резонанса, высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярной вискозиметрии и аминокислотного анализа. Основными подходами при проведении иммунологических исследований являлись вирусологические, культуральные, серологические и иммунологические методы.

Автор показала, что иммуноадьювантная активность хитозана и его производных в составе экспериментальных инактивированных вакцин против гриппа зависят от молекулярной массы (ММ) и степени деацетилирования (СД) биополимера. Установлено, что чем выше молекулярная масса хитозана и степень деацетилирования, тем более выражены его адьювантные свойства. Как следствие, впервые предложен перспективный адьювант-кандидат на основе хитозана с ММ 700 кДа, СД 85%.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

В процессе выполнения диссертационного исследования получен низкомолекулярный хитозан с ММ 10 кДа, СД 85% с использованием ферментного препарата, продуцируемого мицелиальным грибом *Myceliophthora fergusii*. Впервые изучена в сравнении иммуноадьювантная активность хитозана с различными физико-химическими характеристиками:

ММ в диапазоне от 10 до 700 кДа, СД - от 30 до 98% и его производных – сукциноил-хитозана с различной степенью замещения: от 25 до 75% на модели моновалентных гриппозных инактивированных вакцин при внутримышечной иммунизации мышей. Наиболее выраженными адъювантными свойствами обладали препараты на основе хитозана с высокой молекулярной массой и степенью деацетилирования. При этом производные хитозана – сукциноил-хитозаны вне зависимости от степени замещения не повышали иммуногенность вакцины. Впервые показано, что адъювантные свойства хитозана с высокой ММ и СД превосходят гидроксид алюминия и олигодезоксинуклеотид (СрG) и не уступают адъювантам по типу «масло в воде» на основе сквалена, и проявляются лишь при совместном введении с вакциной.

Таким образом, в результате выполнения диссертационного исследования представлено научное обоснование целесообразности дальнейшего изучения иммуноадъювантной активности хитозана, прежде всего, с высокой молекулярной массой и степенью деацетилирования.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах.

Диссертационная работа Хантимировой Л.М. является научно-квалификационной работой и посвящена получению хитозана и его производных с различными физико-химическими характеристиками, изучению их адъювантных свойств в составе экспериментальных моновалентных инактивированных вакцин против гриппа в рамках прямых сравнительных исследований со стороны как повышения иммуногенности, так и обеспечения защитного эффекта вакцин. Работа может быть условно разделена на три части: получение образцов хитозана с различными физико-химическими характеристиками, изучение иммуноадъювантной активности хитозана в составе инактивированных вакцин против гриппа человека и животных и сравнительное изучение адъювантных свойств хитозана с

другими адьювантами. Работа представляет собой многостороннее исследование, написана доступным языком и хорошо структурирована. Обзор научной литературы содержит актуальные данные, большинство цитируемых источников опубликовано в период последних 5 лет). Результаты исследований сопровождаются иллюстративным материалом – 16 рисунками и 13 таблицами. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Результаты диссертационной работы опубликованы автором в 20 печатных работах, 4 из которых – в изданиях, рекомендованных ВАК, а также материалах российских и зарубежных конференций. Получены 2 патента Российской Федерации на изобретение. Опубликованные данные соответствуют представленным в диссертационной работе результатам. Очевиден личный вклад автора, как в экспериментальной части работы, так и на этапе анализа и обсуждения полученных результатов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Несмотря на то, что проведенные соискателем исследования носят фундаментальный характер, сама проблема и полученные результаты могут представлять практический интерес. Представляет несомненную актуальность развитие темы и проведение более детальных исследований механизмов иммуноадьювантной активности перспективного адьюванта-кандидата (хитозана с ММ 700 кДа и СД 85%), характеристика профиля иммунного ответа, оценка зависимости «доза-эффект». Кроме того, целесообразно рекомендовать данный препарат для доклинических исследований.

Противомикробные свойства данного биополимера могут быть применены в качестве стабилизаторов вакцин.

При детальном ознакомлении с материалами диссертации возникли следующие замечания и вопросы.

Замечания.

1. Работа написана не достаточно подробно, в частности, такие главы, как «Обзор научной литературы», «Результаты собственных исследований»: не четко представлены дизайны экспериментов (на мышах), а также табличные и графические данные, подписи к ним. В главе «Обсуждение результатов» часть материала могла бы быть представлена в «Обзоре научной литературы», содержатся табличные данные, что логично было бы представить в главе «Результаты собственных исследований».

2. Неудачные выражения и обозначения, например, РЗГА – общепринятым обозначением является РТГА (реакция торможения гемагглютинации).

3. Было бы хорошо представить данные РТГА по антигенному анализу вирусов гриппа А(Н5N1) и А(Н5N2), подтвердив их гетерологичность.

4. В главе «Материалы и методы» указан вирус A/Brisbane/59/2007 IVR (H1N1), однако при представлении результатов он не упоминается.

Вопросы.

1. Обоснуйте выбор методов оценки иммуногенности и эффективности экспериментальных вакцин с адьювантом хитозаном? В частности, не совсем понятен метод (не описан подробно в работе) по определению антител в легких и их оценке (в работе – по разнице оптической плотности). Использует кто-либо из других исследователей этот метод, и насколько различались по титрам образцы сывороток крови и легких у одних и тех же мышей?

2. В чем заключается механизм действия хитозана в качестве адьюванта?

Сделанные замечания не снижают научной и практической ценности диссертационной работы и не влияют на общую положительную оценку полученных результатов.

Заключение.

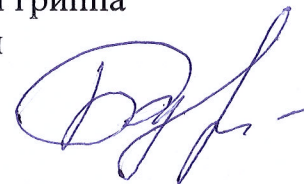
Диссертационная работа Хантимировой Лейсан Маратовны на тему «Получение хитозана, его производных, изучение их физико-химических характеристик и иммуноадыювантной активности в составе инактивированных вакцин против гриппа», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 – вирусология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является научно-квалификационным исследованием, результатом которого стало решение актуальной проблемы – характеристика свойств нового адыюванта – хитозана, что позволит использовать полученные данные при разработке новых эффективных вакцин для профилактики гриппа, а также использовать в качестве платформы для создания панели иммунобиопрепаратов с управляемыми свойствами.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа отвечает 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 диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор представленной диссертационной работы – 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).

Отзыв обсужден и одобрен на научной конференции Отдела экологии вирусов с научно-практическим центром по экологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», подразделение Институт

вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России 11 ноября 2019г.
(Протокол № 7).

Заведующая лабораторией этиологии и эпидемиологии гриппа
ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
д.м.н. Бурцева Елена Ивановна
Москва 123098 ул. Гамалеи д.18
тел. 8 499 190 30 46, e-mail: elena-burtseva@yandex.ru



Подпись Бурцовой Е.И. заверяю

Ученый секретарь ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18 Тел. 193-71-71, e-mail: info@gamaleya.org

