

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, Красильникова Игоря Викторовича на диссертационную работу Никифоровой Александры Николаевны «Безопасность и иммуногенность тривалентной инактивированной гриппозной вакцины с новым адьювантом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02-вирусология.

### Актуальность темы.

По своей социальной значимости грипп находится на первом месте среди инфекционных заболеваний человека. По оценкам Всемирной организации здравоохранения грипп ежегодно вызывает серьезные осложнения у 3–5 млн. человек, приводящие к смертельным исходам в 250 000 – 500 000 случаев. Наиболее эффективным, научнообоснованным и экономически оправданным методом профилактики данной инфекции является вакцинация. На сегодняшний день существует два основных типа гриппозных вакцин — живые и инактивированные.

В состав субъединичных вакцин, в отличие от живых и цельновирионных, включены только специфические антигены, стимулирующие гуморальный иммунный ответ, что приводит к снижению реактогенности вакцины и повышает ее безопасность. Однако при этом снижается иммуногенность субъединичных вакцин.

В настоящее время для повышения эффективности инактивированных гриппозных вакцин в экспериментальных и клинических исследованиях применяют адьюванты различного происхождения: минеральные, микробные, растительные, синтетические и др. Однако, несмотря на активное использование уже имеющихся адьювантов, сегодня назревает необходимость в разработке и оценке нового поколения адьювантов, создаваемых на основе последних достижений в области иммунологии. С одной стороны, адьювантные вакцины позволяют преодолеть ослабление иммунитета за счет более сильной специфической стимуляции, с другой - использование адьювантов позволяет повысить эффективность вакцин за счет уменьшения количества антигена на дозу лекарственного препарата. Таким образом, разработка эффективных и безопасных адьювантных вакцин, обеспечивающих формирование выраженного и длительно сохраняющегося иммунитета, остается одной из важнейших задач вакцинологии.

Выбранная диссертантом тема посвящена разработке адьювантной гриппозной вакцины, оценке ее безопасности и иммуногенности. В связи с вышеизложенным выполненное Никифоровой А.Н. исследование соответствует современной постановке задач, актуальность темы диссертации сомнений не вызывает, работа важна особенно с практической точки зрения.

### Научная новизна исследования.

В ходе выполнения диссертационной работы была создана инактивированная гриппозная вакцина с иммуномодулятором (сополимер 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона (Совидон)), ранее не использовавшимся в вакцинах для иммунизации людей, и подобрано его оптимальное содержание в инактивированной гриппозной вакцине. Впервые в рамках исследований на лабораторных животных (мышьях, кроликах и хорьках) показана безопасность и

высокая антигенная активность инактивированной гриппозной вакцины с Совидоном. Впервые инактивированная гриппозная вакцина с исследуемым адьювантом изучена в рамках клинических исследований на добровольцах в возрасте 18 – 60 лет, где показана ее хорошая переносимость, низкая реактогенность, безопасность и иммуногенность.

**Практическая значимость** работы А.Н. Никифоровой заключается в разработке эффективного и безопасного препарата для профилактики гриппа, прошедшего многочисленные исследования на лабораторных животных, а также клинические испытания, выполненные при строгом соблюдении нормативных актов Российской Федерации. Разработка сезонной гриппозной инактивированной вакцины с новым адьювантом позволяет расширить круг препаратов для профилактики гриппа на территории Российской Федерации.

На основании результатов проведенных исследований оформлена нормативная документация (фармакопейная статья предприятия, инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения), разработан регламент производства и зарегистрирована новая инактивированная субъединичная гриппозная вакцина Совигрипп в Российской Федерации (регистрационное удостоверение № ЛП-001836 от 13.09.2012 г.).

#### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, включая 16 таблиц и 26 рисунков. Построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, четырех глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списков сокращений, литературы и иллюстративного материала.

Во введении отмечена актуальность темы и степень разработанности проблемы, поставлены цели и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены положения, выносимые на защиту, а также приведены вклад автора и соавторов в выполнение данного исследования.

При написании «Обзора литературы» Никифоровой А.Н. использовано большое количество работ отечественных и зарубежных авторов (список литературы содержит 220 источников – 65 на русском и 155 на английском языках). Обзор проанализированных источников изложен хорошим литературным языком. Обзор литературы занимает 41 страницу и разделен на три основных раздела. В первом разделе проанализированы проблемы современной профилактики гриппа и пути дальнейшего развития. Показано, что использование безопасных и эффективных адьювантов, усиливающих протективные свойства вакцины, включая индукцию нейтрализующих антител против широкого спектра различных штаммов, является важной стратегией для разработки гриппозных сезонных вакцин. Второй раздел посвящен обзору адьювантов, одобренных к использованию в гриппозных вакцинах и находящихся на различных этапах разработки. Третий раздел целиком посвящен описанию этапов изучения сополимера 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона (Совидон). Данные, полученные в этих

многочисленных исследованиях, позволяют рассматривать сополимер 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона (Совидон) в качестве иммуoadъюванта в составе различных профилактических и терапевтических вакцин и препаратов, как против соматических, так и против инфекционных заболеваний.

Раздел собственных исследований традиционно начинается с описания материалов и методов, используемых при выполнении работы. Автором приведены описание использованных в работе биохимических, вирусологических и иммунологических методов, а также порядок работы с лабораторными животными и программа проведения клинических исследований. Также описан порядок статистической обработки полученных данных.

Центральной частью работы являются полученные диссертантом собственные результаты исследований, разделенных на 4 главы. В первой главе приводится анализ полипептидного состава концентратов экспериментальных гриппозных вакцин. Автору удалось убедительно продемонстрировать, что исследуемые образцы содержат высокие концентрации антигенов, необходимые для создания достаточного уровня иммуногенности (более 95 %). При этом в их составе отсутствует нуклеопротеин, а количество М-белка - незначительно (менее 5 %), что должно обеспечить низкую реактогенность разработанной вакцины.

Второй раздел собственных исследований посвящен изучению морфологических характеристик экспериментальной гриппозной вакцины при добавлении адъюванта Совидон с помощью электронной микроскопии. В данной части работы показана способность Совидона к формированию наночастиц при добавлении вирусных субъединиц - глобул до 350 нм и наночастиц – 80 нм, внешне имеющие сходство с виросомами, в которых были локализованы поверхностные антигены вируса гриппа. Основываясь на механизмы эндоцитоза было сделано предположение, что показанная с помощью электронной микроскопии способность Совидона к образованию комплексов с гемагглютинином размером 80 – 350 нм будет способствовать преимущественно развитию гуморального иммунного ответа, индуцируя реакцию Тх2, что позволяет считать Совидон перспективным адъювантом для создания инактивированной гриппозной вакцины.

Третья часть собственных исследований является основной и посвящена выбору оптимальной дозы адъюванта на основании результатов безопасности и антигенной активности. Исследования проводились на достаточном количестве различных лабораторных животных (мыши, кролики, хорьки). Была продемонстрирована безопасность и высокая антигенная активность экспериментальной вакцины при внутримышечном введении животным. Обнаруженная вариабельность в строении зародышевых центров в фолликулах селезенки отражала индивидуальные иммунологические особенности. При этом зародышевые центры в фолликулах селезенки были более выражены у иммунизированных животных. Подобная же зависимость была отмечена в других исследованиях на лабораторных животных, где

доказывается, что иммунизация гриппозными вакцинами приводит к увеличению площади герминальных центров фолликулов и отражает способность к стимуляции антителогенеза. На основании анализа данных по безопасности и антигенной активности, полученной на мышках и хорьках, в качестве оптимальной дозы Совидона в составе инактивированной гриппозной вакцины выбрана следующая концентрация - 500 мкг на дозу препарата (0,5 мл).

Заключительная часть представляет собой результаты клинических исследований с участием 330 добровольцев в возрасте 18 – 60 лет. В ходе проведения данных исследований подтвердился высокий профиль безопасности гриппозной вакцины с Совидоном (Совигрипп). Было продемонстрировано, что изучаемая вакцина с новым адьювантом сопоставима, а по ряду показателей иммуногенности превосходит вакцину того же типа (Гриппол). Таким образом, добавление в инактивированную вакцину препарата Совидон (500 мкг/доза) в качестве адьюванта позволяет создать высокоиммуногенную и безопасную вакцину для профилактики гриппа.

В «Обсуждении результатов» приводится критический анализ полученных результатов и сопоставление их с уже имеющимися литературными данными.

В «Заключении» подводятся итоги проведенных исследований. Выводы диссертационной работы полностью соответствуют поставленным цели и задачам и полностью отражают данные, полученные в ходе выполнения работы.

Достоверность результатов исследований, проведенных автором, подтверждается большим объемом изученных, обобщенных и проанализированных с использованием адекватного статистического анализа данных, полученных в исследованиях, выполненных при строгом соблюдении нормативных актов Российской Федерации. Материалы диссертации были представлены на международных и Всероссийских симпозиумах, съездах и конференциях. По результатам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах реферируемых ВАК.

**Замечания и вопросы.** Автору диссертационной работы удалось избежать серьёзных ошибок, а отдельные опечатки и неточности не носят принципиального характера и не влияют на качество проведенных исследований и хорошее восприятие работы. Есть только одно замечание, которое касается вакцин с адьювантом в виде наночастиц: необходимо исследовать препарат в течение длительного времени на стабильность. Вполне возможно, что в настоящее время такие данные уже есть.

**Заключение.** Диссертация Никифоровой Александры Николаевны «Безопасность и иммуногенность тривалентной инактивированной гриппозной вакцины с новым адьювантом» является вполне законченным научно-исследовательским трудом. Полученные автором результаты достоверны, положения и выводы достаточно обоснованы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. Опубликованные автором научные статьи полностью соответствуют теме диссертации. Работа основывается на большом количестве исходных данных,

написана хорошим литературным языком. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы. Таким образом, диссертационная работа «Безопасность и иммуногенность тривалентной инактивированной гриппозной вакцины с новым адьювантом» отвечает требованиям п. 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Никифорова Александра Николаевна – заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Официальный оппонент  
доктор биологических наук, профессор,  
заместитель директора по инновациям  
и международным отношениям  
ФГУП СБНИИВС ФМБА России

/И.В. Красильников/

18.11.2015

Подпись Красильникова И.В. удостоверяю.

Подпись руки г. *Красильникова ИВ*  
удостоверяю и заверяю

Нач. отд. кадров

*Васильева И.А.*

