

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук  
Богословской Елены Владимировны на диссертационную работу  
Котоминой Татьяны Сергеевны  
на тему **«Холодоадаптированные вирусы гриппа как платформа для  
конструирования векторных вакцин на модели респираторно-  
синцитиального вируса»**, представленной к публичной защите на соискание  
ученой степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.10.» -  
вирусология

### Актуальность темы

Разработка вакцин против различных патогенов является приоритетной задачей мирового здравоохранения. До сих пор для многих актуальных патогенов эффективных вакцин не разработано. В последние годы перспективным направлением считается разработка комбинированных вакцин, защищающих от нескольких схожих по симптоматике заболеваний, например, против респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и гриппа. Использование подходов на основе вирусных векторов может быть полезным инструментом не только в создании комбинированных вакцин, но и для достижения большей эффективности по сравнению с классическими субъединичными вакцинами, поскольку вирусные вектора способны естественным образом индуцировать все звенья иммунитета (гуморальный и клеточный) без использования дополнительных адъювантов. В данном контексте перспективным вирусным вектором является штамм лицензированной живой гриппозной вакцины (ЖГВ), который может быть использован для создания рекомбинантной вакцины от РСВ. Таким образом, диссертационная работа, нацеленная на разработку подходов к конструированию векторных вакцин на основе штаммов отечественной ЖГВ, используя в качестве модели РС вирус, является актуальным и своевременным исследованием.

**Степень обоснованности основных научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

В диссертационной работе Котоминой Т.С. впервые реализована идея создания векторных вакцин на основе холодоадаптированных штаммов отечественной живой гриппозной вакцины (ЖГВ) путем введения целевых трансгенов в состав генов NA, NA или NS1. Автором впервые сконструированы жизнеспособные химерные вирусы гриппа, несущие фрагменты чужеродного вируса, при этом химерные вирусы сохраняли генетическую стабильность, а в отношении вируса гриппа сохранили высокую иммуногенность и защитную эффективность. В диссертационной работе впервые доказано, что направленная индукция Т-клеточного иммунитета к встроенным эпитопам РСВ является перспективной стратегией для создания вакцин против РС вируса, поскольку в данном случае происходит формирование тканерезидентных Т-клеток памяти – первого защитного барьера при проникновении патогена в организм. Важным результатом проведенных исследований является демонстрация безопасности всех сконструированных вакцинных кандидатов – векторные вакцины не вызывали состояния вакцин-индуцируемой бронхолегочной патологии после заражения РСВ, свойственной формалин-инактивированной РСВ вакцине.

Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений, выводов и заключений не вызывает сомнений и основывается на грамотно спланированном дизайне экспериментов с использованием всех необходимых контролей, проведении двух независимых экспериментов на базе ФГБНУ «ИЭМ» и Государственного института штата Джорджия (Атланта, США), адекватно подобранных современных методов исследования и использовании релевантных методов статистической обработки данных.

**Апробация результатов**

По результатам диссертационной работы было опубликовано 8 статей и 8 тезисов, 6 из которых - в журналах, рекомендованных ВАК. Материалы работы были представлены на 8 научных российских и международных конференциях. Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают содержание диссертации, поставленные цели и задачи.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов**

Представленное научное исследование Котоминой Т.С. несет прикладное значение и направлено на практическое решение вопроса создания векторных вакцин на основе холодоадаптированных вирусов гриппа. Дальнейшая разработка вакцины против РСВ на основе ЖГВ позволит не только решить проблему РСВ-инфекции, но и позволит одновременно обеспечивать защиту от двух наиболее актуальных респираторных заболеваний. Кроме того, разработанные в диссертационном исследовании принципы конструирования векторных вакцин могут быть использованы для дизайна вакцин и против других актуальных вирусных инфекций человека.

### **Структура и оформление работы**

Работа изложена на 161 странице машинописного текста, построена по классическому принципу и включает следующие разделы: «Введение», «Литературный обзор», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждения» и «Выводы». Диссертация проиллюстрирована 30 рисунками и содержит 6 таблиц. Автор привела 376 литературных источников в разделе «Список литературы» (4 на русском и 372 на английском языках).

Во введении соискатель обосновал актуальность темы исследования, степень разработанности, определил цели и задачи, сформулировал научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, положения, выносимые на защиту.

**Первая глава** содержит обзор современной научной литературы, в котором представлена информация о вирусных векторах, являющихся ключевым звеном в создании векторных вакцин. Векторные вакцины способны решить проблему создания вакцин против тех патогенов, к которым невозможно по ряду причин создать вакцины классическими методами. В качестве вектора предложено использовать холодоадаптированный штамм вируса гриппа, приведены доводы в пользу использования именно штаммов ЖГВ для создания вакцины против респираторно-синцитиального вируса (РСВ). Соискатель дал подробную характеристику РС вирусу, описал особенности патогенеза, привел обширный обзор по вакцинам – кандидатам, которые находятся на разных этапах доклинических и клинических испытаний. Проведенный автором анализ литературы подтверждает актуальность темы исследования.

Во **второй главе** подробно описаны используемые материалы и методы исследования, с помощью которых были получены результаты. Используются самые современные вирусологические, биоинформатические, молекулярно-генетические, иммунологические методы. Методы исследования описаны детально и могут быть воспроизведены.

**Третья глава** посвящена результатам собственных исследований и содержит 3 раздела. В первом разделе представлены результаты, касающиеся отбора полиэпитопных кассет РС вируса. Выбраны 2 полиэпитопные кассеты, одна направлена главным образом на выработку нейтрализующих антител, вторая – на выработку Т-клеточного ответа. Второй раздел посвящен конструированию рекомбинантных штаммов ЖГВ, экспрессирующих В-клеточные эпитопы РСВ, и изучению их свойств. Третий раздел посвящен изучению рекомбинантных штаммов ЖГВ, экспрессирующих Т-клеточные эпитопы РСВ. Результаты демонстрируют генетическую стабильность всех рекомбинантных штаммов и сохранение всех первоначальных свойств ЖГВ, что является несомненным достоинством вакцины. Продемонстрирована защитная эффективность рекомбинантных штаммов как против гриппа, так и

против РСВ. Наибольшей активностью против РСВ обладали штаммы, несущие Т-клеточные эпитопы, при этом они не вызывали вакцин-индуцированного усиления инфекции. Грамотно выбранные контрольные группы не вызывают сомнений в достоверности полученных результатов.

В четвертой главе автор приводит обсуждение полученных результатов. Была показана перспективность использования именно Т-клеточных эпитопов РСВ для разработки векторных вакцин на основе ЖГВ. Это обстоятельство отличает данное диссертационное исследование, поскольку большинство работ, посвященных созданию вакцин против РСВ, нацелено на включение эпитопов, которые расположены в F белке РСВ и нацелены на индукцию гуморального иммунного ответа.

**Выводы**, сделанные автором по результатам проведенной работы, полностью основываются на представленном материале.

Замечания по оформлению работы отсутствуют.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

В результате проведенного исследования разработаны технологии встраивания трансгена в разные локусы вектора на основе штаммов живой гриппозной вакцины, которые реализованы на примере эпитопов РСВ. Полученные результаты исследований, могут быть в дальнейшем использованы для разработки векторных вакцин комбинированного действия, т.е. направленных против нескольких различных респираторных патогенов.

#### **Замечание и вопросы к работе**

Ознакомившись с материалами диссертационного исследования, возникли следующие вопросы для уточнения:

1. В обзоре литературы слабо освещена проблема усиления инфекции после вакцинации. Какие механизмы лежат в основе этого феномена?

2. В большинстве описанных в обзоре литературы вакцин используется белок F в качестве антигена. Почему в диссертационном исследовании было принято решение включать Т-клеточные эпитопы?

3. Не вполне понятен смысл проверки полиэпитопной кассеты на наличие неозпитопов.

4. Не аккуратно сформулированы выводы исследования: в частности 2 задача – логично было бы в выводах написать, что были разработаны технологии встраивания трансгена в 3 разные локуса с сохранением функциональной активности вируса гриппа, для 3 задачи нет вывода, вывод 5 не в полной мере решает задачу 5, хотя результаты есть.

Возникшие вопросы и замечания не влияют на положительную оценку диссертационной работы и носят уточняющий характер.

### **Заключение**

Диссертационная работа Котоминой Татьяны Сергеевны на тему «Холодоадаптированные вирусы гриппа как платформа для конструирования векторных вакцин на модели респираторно-синцитиального вируса» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области вирусологии по созданию платформы на основе рекомбинантных вакцинных штаммов ЖГВ для конструирования векторных вакцин против РСВ.

Содержание диссертационного исследования свидетельствует о высоком методическом уровне и потенциале работы в соответствии с современным уровнем и тенденциями развития иммунологии и вирусологии.

По своей актуальности, научной новизне, практической значимости и объему проведенных исследований диссертационная работа Котоминой Т.С. соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., № 748 от

02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г., №1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 101 от 26.01.2023 г.), а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 «Вирусология».

Официальный оппонент: доктор медицинских наук (14.03.10 клиническая лабораторная диагностика), заведующая лабораторией разработки методов генной терапии центра постгеномных технологий ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства

Богословская Елена Владимировна  
« 29 » сентября 2023 г.



Почтовый адрес: 119121, Москва, Погодинская д. 10с1  
Тел. 8(958)500-8098  
e-mail: bogoslovskaya@cspmz.ru

Подпись д.м.н. Богословской Е.В. ЗАВЕРЯЮ  
Ученый секретарь ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства, кандидат биологических наук  
Водянова Мария Александровна

« 29 » сентября 2023 г.

