

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Филатова Александра Васильевича на диссертацию Деркаева Артема Алексеевича «Однодоменные антитела специфичные к токсину *C.botulinum* и изучение возможности их применения для терапии ботулизма», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки)

Актуальность темы исследования

Актуальность представленного диссертационного исследования определяется острой необходимостью перехода от устаревших методов терапии ботулизма к современным, высокоспецифичным и безопасным биотехнологическим подходам. Несмотря на то, что антитоксинавая терапия остается основным способом лечения ботулизма, она имеет множество недостатков. Помимо ограниченной эффективности против уже связавшегося с нейронами токсина и возможного прогрессирования симптомов после введения, главная проблема заключается в выраженной иммуногенности чужеродного белка, приводящей к высокому проценту серьезных аллергических реакций (анафилаксия, сывороточная болезнь), что делает лечение потенциально опасным. Развитие методов иммунологии и молекулярной биологии сделало возможным получение рекомбинантных моноклональных антител (мАТ), обладающих высокой специфичностью, предсказуемым профилем безопасности. Такие продукты обладают низкой иммуногенностью и возможностью неограниченного воспроизводимого производства. Особый интерес в последние десятилетия вызывают различные перспективные формы антител, например, такие как однодоменные антитела (VHH), отличающиеся малым размером, повышенной стабильностью и

способностью связывать труднодоступные эпитопы. Однако для терапевтического применения важно улучшить их фармакокинетику, в частности, время циркуляции в сыворотке крови. Стратегия конструирования VHH слитых с Fc-фрагментом IgG1 человека, исследуемая в данной работе, является важным направлением для преодоления этого ограничения, обеспечивая не только пролонгированное действие, но и эффекторные функции. Таким образом, разработка и доклинические исследования новых рекомбинантных мАТ, и особенно их неканонических форм (таких как VHH-Fc), нейтрализующих BoNT/A, представляет собой актуальное и высокоперспективное направление. Данная работа вносит значимый вклад в создание терапевтических средств нового поколения для борьбы не только с ботулизмом, но и с другими опасными заболеваниями.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, является высокой. Обоснованность обеспечивается использованием современных, адекватных задачам методов исследования: иммунологических, молекулярно-биологических и биотехнологических методов. Достоверность полученных результатов подтверждается комплексным подходом: детальной характеристикой физико-химических и иммунологических свойств полученного антитела B11-Fc с применением современных инструментальных методов, всесторонним изучением его защитной эффективности на экспериментальных моделях интоксикации (включая внутрижелудочную модель, релевантную пищевому ботулизму человека) в различных режимах применения (терапия, экстренная и краткосрочная профилактика), а также

проведением полного комплекса доклинических исследований безопасности в соответствии с установленными регуляторными требованиями. Экспериментальные данные корректно обработаны с помощью статистических методов. Выводы логически вытекают из экспериментальных результаты. Объем и глубина проведенных исследований достаточны для подтверждения заявленных научных положений.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационного исследования заключается в разработке и экспериментальном обосновании принципиально нового подхода к терапии и профилактике ботулизма типа А на основе модифицированных однодоменных антител. Впервые созданы и охарактеризованы оригинальные генетические конструкции, кодирующие однодоменные антитела, специфичные к ботулиническому нейротоксину типа А, которые слиты с Fc-фрагментом IgG1 человека. Разработана и оптимизирована технология получения такого антитела, включая создание стабильной клеточной линии-продуцента СНО и схему многоступенчатой хроматографической очистки. Впервые отработана и валидирована экспериментальная модель внутрижелудочной интоксикации мышей BoNT/A, адекватно воспроизводящая пищевой ботулизм человека и позволяющая изучать терапию при развитии симптомов. Впервые на экспериментальных моделях доказано, что модифицированное однодоменное антитело B11-Fc обеспечивает не только экстренную и долгосрочную (до 21 дня) профилактику, но и высокоэффективную терапию интоксикации BoNT/A, в том числе при введении после появления клинических признаков. Получены новые данные, демонстрирующие безопасность и фармакокинетический

профиль антител с неканонической структурой в доклинических исследованиях.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования не вызывает сомнений. Теоретическая значимость работы заключается в существенном расширении знаний о возможностях применения и механизмах действия модифицированных однодоменных антител VHH-Fc для нейтрализации высокотоксичных бактериальных токсинов, в частности ботулинического нейротоксина типа А. Получены новые данные, подтверждающие высокий терапевтический и профилактический потенциал данного класса биопрепаратов, а также их фармакокинетические профили и безопасность. Практическая значимость исследования определяется созданием готового кандидатного препарата на основе модифицированного однодоменного антитела B11-Fc для терапии и экстренной профилактики ботулизма, разработкой завершенной и воспроизводимой технологии его производства (включая создание стабильного продуцента и схему очистки) и проведением полного цикла доклинических исследований, подтвердивших его эффективность и безопасность. Разработанная технология и полученные результаты легли в основу нескольких патентов, а успешное прохождение доклинических исследований обеспечило получение разрешения на клинические исследования I/II фазы, что дает возможность внедрения препарата в клиническую практику. Дополнительная практическая ценность заключается во внедрении разработанного автором метода количественного анализа модифицированных однодоменных антител методом биослойной интерферометрии в практику центра.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа, выполненная Деркаевым Артемом Алексеевичем, соответствует пунктам 6 и 7 паспорта научной специальности 3.2.7. Иммунология (6 – Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов; 7 – Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Результаты, описываемые в диссертации, полно представлены в печати. По материалам диссертационной работы опубликовано 7 научных работ, включающих 3 печатные статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК, получены 2 патента РФ на изобретение, а также результаты представлены на двух научно-практических конференциях, тезисы которых опубликованы в сборниках материалов.

Структура и содержание диссертации

Структура диссертационной работы является логичной и полностью отражает содержание проведенного исследования. Работа, изложенная на 184 страницах, состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам и методам, результатам собственных исследований и их обсуждению, заключения, выводов и перспектив дальнейшей разработки. Список литературы включает 222 источника. Наличие 22 таблиц и 41 рисунка способствует детальной визуализации данных. Введение всесторонне

обосновывает актуальность темы, определяет цель, задачи, научную новизну и значимость работы. «Обзор литературы» охватывает широкий спектр вопросов, связанных с ботулиническим нейротоксином, существующими и разрабатываемыми подходами к терапии, уделяя внимание как международному опыту, так и отечественным разработкам. «Материалы и методы» характеризуется высокой степенью детализации, необходимой для воспроизводимости: подробно описаны методы создания стабильного продуцента антитела B11-Fc, технологии его культивирования и очистки, оригинальные методики постановки и валидации моделей интоксикации, а также все протоколы оценки эффективности, фармакокинетики и безопасности. Глава «Результаты» содержит исчерпывающее представление экспериментальных данных, демонстрирующих успешное получение и характеристику антитела B11-Fc, его высокую профилактическую и терапевтическую эффективность на моделях, а также подтверждение безопасности в доклинических исследованиях. Глава «Обсуждение» содержит аргументированный анализ результатов в контексте современных научных знаний. Заключение и выводы точно отражают суть выполненной работы. Оформление диссертации соответствует установленным требованиям.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает основные результаты и содержание диссертации.

Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе

В процессе ознакомления с диссертацией отмечены незначительные стилистические погрешности и опечатки, не искажающие сути изложения. В качестве замечаний можно отметить желательность более детального

представления в разделе «Обсуждение» (Глава 4) сравнительного анализа фармакокинетических параметров полученного антитела B11-Fc с параметрами других известных терапевтических антител. Также, учитывая важность экономического аспекта при внедрении новых биопрепаратов, было бы полезным представить в диссертации предварительную оценку себестоимости производства B11-Fc по разработанной технологии в сравнении с производством лошадиного антитоксина.

К автору диссертации возникают следующие вопросы:

1) Какие факторы, помимо улучшения фармакокинетики, определили выбор именно стратегии создания моновалентного однодоменного антитела, слитого с Fc-фрагментом, по сравнению с другими возможными форматами (например, биспецифическими антителами или мультимерными структурами на основе VHH) для нейтрализации BoNT/A?

2) Имеет ли полученное антитело B11-Fc перекрестную реактивность к другим серотипам ботулинического нейротоксина?

Представленные замечания и вопросы не влияют на общую положительную оценку выполненной диссертационной работы и значимость достигнутых научных и практических результатов.

Заключение

Диссертационная работа Деркаева Артема Алексеевича на тему «Однодоменные антитела специфичные к токсину *C.botulinum* и изучение возможности их применения для терапии ботулизма» представляет собой завершенное научное исследование, выполненное на высоком научно-методическом уровне. В результате работы была изложена и решена проблема создания препарата для специфической терапии ботулизма актуальными и современными методами. Сформулированные в диссертации научные

положения, выводы и рекомендации являются обоснованными и достоверными, базируясь на комплексном экспериментальном исследовании с использованием современных методов. Материалы диссертации полно представлены в опубликованных работах. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. и последующими редакциями Постановления Правительства РФ (№723 от 30.07.2014 г., №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., №650 от 29.05.2017 г., №1024 от 28.08.2016 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 26.01.2023 г., №415 18.03.2023 г., №1786 26.10.2023 г., №62 25.01.2024 г., №1382 16.10.2024 г.), а ее автор Деркаев Артем Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология (биологические науки).

Заведующий лабораторией иммунохимии

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,

д.б.н., профессор

Филатов Александр Васильевич

«19» нояб 2025

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства. 115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24. Тел.: +7 (499) 311-67-78. Эл. почта: regii@nrcii.ru.

