

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Джаруллаевой Алины Шамировны на тему «Роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 — клиническая иммунология, аллергология.

Врожденная иммунная система является ключевым фактором резистентности растений и животных в отношении патогенов. В основе врожденной иммунной системы лежат рецепторы, которые распознают структурные компоненты, присущие большим группам патогенов (паттерны), а активация данных паттерн-распознающих рецепторов (ПРР) приводит к развитию адаптивного иммунного ответа. Сейчас, известно 5 семейств ПРР: Toll-подобные рецепторы, NOD-подобные рецепторы, С-лектиновые рецепторы, RIG-подобные рецепторы и ДНК-сенсоры. При взаимодействии с соответствующими паттернами ПРР запускают сигнальные каскады, которые затем приводят к активации транскрипционных факторов, отвечающих за развитие иммунных реакций. В настоящее время ведется большое количество исследований возможности использования агонистов ПРР в качестве молекулярных адъювантов. В данной работе предложено совместное использование агонистов Toll- и NOD-подобных рецепторов, относящихся к различным семействам, в качестве молекулярных адъювантов. Достоинствами данной работы является характеристика врожденных и приобретенных иммунных реакций, а также протективных свойств модельной вакцинной формуляции, содержащей в качестве адъюванта агонисты TLR4 и NOD2 рецепторов, в сравнении с контрольными вакцинными формуляциями, содержащими только один из агонистов ПРР. Все данные в работе прошли адекватную статистическую обработку и являются достоверными. Антиген и агонисты ПРР были инкорпорированы в наночастицы на основе

поли(молочной-ко-гликолевой) кислоты, что позволило одновременно представить компоненты вакцинной формуляции антиген-презентирующей клетке и тем самым оценить вклад сочетанной стимуляции ПРР в развитии реакций приобретённого иммунитета.

Автором был проведен скрининг сочетаний Toll- и NOD- подобных рецепторов с использованием репортерных клеточных линий (THP-1 CD14 Blue и Raw Blue), по результатам которого было выбрано сочетание агонистов TLR4 и NOD2 рецепторов (MPLA и MDP), так как оно обладало наибольшим коэффициентом потенцирования активации транскрипционных факторов (NF- κ B и AP-1). Автор представил данные по влиянию сочетанной стимуляции TLR4 и NOD2 рецепторов на индукцию генов, связанных с иммунными реакциями, активацию транскрипционного фактора NF- κ B *in vivo*, фагоцитарный захват частиц вакцинной формуляции, созревание и активацию дендритных клеток, пролиферацию Т-хелперов, секрецию ИФН- γ мононуклеарными клетками, продукцию антиген-специфичных IgG, подавление гемагглютинирующей активности вируса и протективность в отношении вируса гриппа H1N1. Кроме того, автор показывает возможность значительного снижения количества используемого в вакцинных препаратах антигена, за счет потенцирования иммунных реакций при использовании молекулярного адьюванта на основе агонистов TLR4 и NOD2 рецепторов.

Среди недостатков стоит отметить небольшое количество ошибок в тексте, в основном пунктуационных, а также то, что часть встречающихся в тексте автореферата данных не приведена в таблицах и рисунках. Так на рисунке 1 не представлен сравнительный уровень активности репортерного гена щелочной фосфатазы для выбранных рабочих концентраций MPLA и MDP (1 мкг/мл и 20 мкг/мл, соответственно). Тем не менее, указанные замечания не влияют на общую ценность работы.

Таким образом, диссертационную работу Джаруллаевой А.Ш. «Роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа»,

следует оценить как завершённый научно-квалификационный труд, актуальность, научная новизна, методология и содержание соответствуют требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в редакциях постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 и №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Джаруллаева А.Ш., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Ведущий научный сотрудник лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

(Институт полиомиелита)

кандидат медицинских наук,

gordeychuk_iv@chumakovs.su

(495) 841-90-02 (доб. 1035)

 Гордейчук Илья Владимирович

Подпись к.м.н. Гордейчука И.В. удостоверяю.

Ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

(Институт полиомиелита)

кандидат биологических наук

 Белякова А.В.

« 5 » сентября 2022 г.

Федеральное государственное автономное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Адрес: поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1, город Москва, 108819

Тел./факс (495) 841-90-02; (495) 549-67-60; (495) 841-93-21

E-mail: sue_polio@chumakovs.su, <http://www.chumakovs.ru>.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Джаруллаевой Алины Шахмировны
«Роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного
иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология,
аллергология

Целью исследований, выполненных автором рассматриваемой диссертации, являлось изучение роли сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа. В работе приводятся убедительные доказательства того, что сочетанная стимуляция Toll- и NOD-подобных рецепторов приводит к статистически значимому, зачастую синергичному усилению интенсивности иммунных реакций по сравнению с индивидуальной стимуляцией данных рецепторов.

Актуальность диссертационной работы Джаруллаевой А. Ш. не вызывает сомнений, так как совершенствование существующих, а также разработка новых вакцинных препаратов, остается первоочередной задачей для медицинской науки. В диссертационной работе показана целесообразность использования сочетаний агонистов Toll- и NOD-подобных рецепторов в качестве комплексного молекулярного адьюванта для повышения иммуногенности субъединичных вакцин. В ходе исследований был проведен поиск наиболее эффективных сочетаний Toll- и NOD-подобных рецепторов *in vitro* с использованием двух репортерных клеточных линий: макрофагов мыши RAW264.7 и моноцитарной лейкемии человека THP-1. Данные, полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы, способствуют более глубокому пониманию механизмов индукции иммунных реакций врожденного и приобретенного иммунитета.

Результаты диссертационного исследования, а также выводы и научные положения не вызывают сомнений и являются достоверными, основываются на проведении большого количества экспериментальных работ с применением широко арсенала иммунологических, биохимических, молекулярно-биологических и вирусологических методов исследования с использованием современного оборудования и актуального программного обеспечения. Достоверность результатов исследования подтверждается воспроизводимостью получаемых результатов в повторностях не менее трех, а также тщательно проведенной статистической обработкой. Автореферат отражает основные положения, идеи и выводы диссертации, демонстрирует высокий личный вклад автора в проведенное исследование, содержит все необходимые сведения о проведенных экспериментах. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленной цели и задачам.

Замечаний в ходе рецензирования автореферата не возникло.

По теме диссертации опубликовано 7 статей в рецензируемых журналах из перечня ВАК и цитируемых в базах Web of Science и Scopus. Практическая значимость подтверждена двумя патентами РФ. Результаты проведенных исследований были представлены на ряде научных конференций, в том числе международного уровня.

В целом, по объему экспериментального материала, методическому уровню проведенных исследований, научной новизне и практической ценности данная диссертационная работа соответствует требованиям ВАК РФ в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. N 842, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор Джаруллаева Алина Шахмировна достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Старший научный сотрудник
отдела молекулярной вирусологии
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук



Карташов Михаил Юрьевич

20 июня 2022 года

630559, Новосибирская область, р.п.Кольцово, АБК
Телефон: 8 (383) 363-47-10
E-mail: vector@vector.nsc.ru

Подлинность подписи Карташова М.Ю. удостоверяю
Начальник отдела кадров
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора



Ильин И.В.

ОТЗЫВ

На автореферат диссертационной работы Джаруллаевой Алины Шахмировны на тему «Роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Вакцинация является самым эффективным методом предотвращения распространения инфекционных заболеваний. Вакцинация обеспечивает защиту хозяина и инициирует развитие иммунного ответа за счет имитации инфекционного процесса. Исторически сложилось так, что разработка вакцин велась по принципу Пастера «изоляция, инактивация и введение», согласно которому возбудитель должен быть идентифицирован, выделен, инактивирован или ослаблен и затем введен человеку. С развитием биотехнологии антигены, входящие в состав вакцинных препаратов, стали подвергаться более тщательной очистке и характеристике. Такой подход привел, с одной стороны, к повышению безопасности вакцин, а с другой стороны к значительному снижению иммуногенности, из-за удаления факторов патогенности микроорганизма. Для повышения эффективности вакцин за счет усиления иммунных реакций в состав субъединичных вакцин включают адьюванты. Долгое время в клинической практике использовался только один тип адьювантов - на основе алюминия. Однако после открытия рецепторов врожденного иммунитета и их сигнальных каскадов, в качестве адьювантов, стали изучать их агонисты. Активация врожденного иммунитета агонистами паттерн-распознающих рецепторов приводит к усилению приобретенного иммунного ответа на антиген, что в свою очередь повышает иммунные реакции против целевого патогена. Перспективность использования агонистов паттерн-распознающих рецепторов в качестве адьювантов доказывает ряд доклинических и клинических исследований.

Кроме того, на сегодняшний день имеются зарегистрированные для клинического применения адъюванты на основе агонистов Toll-подобных рецепторов. Стоит отметить, что в данных исследованиях, в качестве адъюванта используются агонисты только одного рецептора врожденного иммунитета. При этом имеется ряд работ, показывающих синергичное повышение реакций врожденного иммунного ответа (секреция цитокинов, хемокинов, антимикробных пептидов и др.) при одновременной активации нескольких паттерн-распознающих рецепторов. Однако эффективность влияния, такого синергичного повышения иммунных реакций на приобретенный иммунитет и перспективность использования данного подхода при разработке адъювантов до сих пор не были охарактеризованы.

Диссертационная работа Джаруллаевой А.Ш. посвящена характеристике врожденных и приобретенных иммунных реакций, в ответ на использование комплексного молекулярного адъюванта, состоящего из агонистов рецепторов TLR4 и NOD2, в составе субъединичной противогриппозной вакцины. В работе представлены данные по выбору наиболее эффективного сочетания агонистов Toll- и NOD-подобных рецепторов, характеристике реакций врожденного иммунитета (активация транскрипционных факторов, секреция цитокинов и хемокинов, фагоцитоз) и напряженности клеточного и гуморального иммунного ответа. Кроме того, показаны данные по увеличению протективных свойств антигена, при использовании комплексного молекулярного адъюванта.

Автор поставил перед собой цель изучить роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета, в формировании реакций адаптивного иммунного ответа, и успешно достигла поставленной цели. Для достижения поставленной цели автор использовал современные методы и оборудование для проведения исследований. Все результаты работы представлены со статистической обработкой.

Результаты исследований имеют как фундаментальное, так и практическое значение. В работе показана актуальность поиска новых

адъювантов, на основе агонистов рецепторов врожденного иммунитета, относящихся к различным семействам. По результатам работы внедрены в практику методы контроля качества различных формуляций субъединичных вакцин, а также рекомбинантных вирусов (rAd5, rAd26, rVSV). Получены патенты РФ на изобретение RU 2742580 C2 и RU 2724896 C1.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р. 7.0.11— 2011, содержит такие главы, как общая характеристика работы, материалы и методы, результаты исследований, выводы и список работ, опубликованных по теме диссертации. В автореферате подробно описаны основные результаты диссертационного исследования. Основные выводы работы, сформулированы на основании статистически достоверных данных и правомерны. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению автореферата не имею.

На основании данных, представленных в автореферате, можно заключить, что диссертационная работа Джаруллаевой Алины Шахмировны «Роль сочетанной стимуляции Toll- и NOD-подобных рецепторов врожденного иммунитета в формировании реакций адаптивного иммунного ответа», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология, является законченной научной работой, выполненной на высоком методическом уровне, и соответствует заявленной специальности. Диссертационная работа Джаруллаевой А.Ш. по своей актуальности, новизне и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в редакциях постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 и №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Ведущий научный сотрудник,

заведующая лабораторией респираторных инфекций,

д.б.н.

 Крылова Н.В.

Подпись заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии

имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора,

к.б.н.



Ляпун И. Н

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1

Телефон: +7(423) 244-14-38

E-mail: niiem_somov@mail.ru

<https://niiem-vlad.ru>