

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. проректора по научной и  
международной деятельности  
федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Башкирский государственный  
медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации (ФГБОУ ВО  
БГМУ Минздрава России), к.м.н.,

доцент

Ишемгулов Р.Р.

« 5 » марта 2026 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Ворониной Дарьи Владимировны на тему «Нейтрализующие однодоменные антитела для защиты от различных подтипов вируса гриппа А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. – Иммунология (биологические науки)

### Актуальность темы выполненной работы

Рецензируемая работа посвящена выяснению физико-химических свойств и структуры однодоменных антител к консервативным эпитопам гемагглютинина

(НА) вируса гриппа А (ВГА), получению на их основе биспецифических антител, изучению их защитных свойств в отношении инфекции, вызванной ВГА, и созданию препарата для ранней этиотропной терапии с последующим проведением доклинических и первой фазы клинических исследований. Проблема разработки препаратов для лечения инфекции, вызванной вирусом гриппа типа А (ВГА), приобретает особую значимость в современных условиях поскольку вирусы гриппа вызывают ежегодные эпидемии, приводят к тяжелому течению заболевания у миллионов людей иногда со смертельным исходом. Высокая изменчивость вируса приводит к ежегодному появлению и циркуляции генетически новых его вариантов, что обуславливает актуальность дальнейшего изучения механизмов заболевания, его осложнённых форм, а также совершенствования подходов к персонализированной терапии и реабилитации пациентов. В связи с этим крайне важной задачей является разработка универсальных средств профилактики и лечения гриппозной инфекции, которые сохраняли бы свою эффективность против постоянно изменяющегося вируса. Однодоменные антитела ввиду своей уникальной структуры, позволяющей им связываться с труднодоступными эпитопами на поверхности вирусных белков, представляются привлекательным объектом для получения препаратов широкого спектра против ВГА. В этом контексте работа Ворониной Дарьи Владимировны является своевременным исследованием, направленным на получение биспецифических антител и разработку препарата для ранней этиотропной терапии инфекции, вызванной ВГА. Поэтому тема исследования несомненно актуальна.

### **Научная и практическая ценность диссертации**

Полученные результаты исследования обладают высокой научной и практической значимостью. Работа направлена на решение актуальной научной задачи в области иммунологии и носит комплексный характер, раскрывая роль однодоменных и биспецифических антител в лечении острой инфекции ВГА и профилактике ее осложнений. В работе разработан подход

к созданию универсальных противовирусных препаратов путем комбинирования однодоменных антител разной специфичности в единую биспецифическую молекулу, что расширяет спектр активности препарата, что очень важно для высокоизменчивых патогенов. Полученные данные вносят существенный вклад в понимание механизмов противовирусного действия однодоменных и биспецифических антител против ВГА.

Известно, что основной антигенной детерминантой ВГА является поверхностный гликопротеин НА, поэтому он служит перспективной мишенью для разработки терапевтических средств против ВГА, в том числе на основе моноклональных антител. Практическая значимость работы Ворониной Д.В. заключается в том, что впервые получена панель однодоменных антител с широким спектром нейтрализующей активности в отношении НА филогенетической группы 1 и антитела широкого спектра против НА филогенетической группы 2. Осуществлена модификация НА-специфических вариабельных доменов тяжелоцепочечных антител (V<sub>HH</sub>) с помощью Fc-фрагмента IgG1 человека и показано, что данная модификация приводит к увеличению нейтрализующего потенциала, спектра активности и аффинности однодоменных антител. Автором продемонстрирован механизм противовирусного действия у Fc-слитых вариантов однодоменных антител G2.3 и D9.2: установлено, что G2.3-Fc предотвращает конформационные изменения НА, ингибируя таким образом слияние вирусной и эндосомальной мембран, а противовирусное действие антитела D9.2-Fc зависит от Fc-опосредованных механизмов. Полученные однодоменные антитела, специфичные в отношении НА филогенетических групп 1 и 2 позволили создать на их основе препарат ГамИнфлюМаб, содержащий биспецифическое тяжелоцепочечное антитело. Практическая значимость исследования обусловлена также разработкой биотехнологической платформы получения данного препарата и проведением доклинических исследований, подтверждающих его эффективность и безопасность. Показано, что полученное модифицированное биспецифическое антитело на основе

выбранных однодоменных антител при применении в режимах терапии и краткосрочной профилактики эффективно защищает животных от летальной дозы ВГА. Были получены новые данные, свидетельствующие о безопасности молекул антител с неканоническим строением, что расширяет понимание их потенциальной клинической применимости. Полученные результаты характеризовали созданный препарат как перспективное лекарственное средство для специфической этиотропной терапии гриппозной инфекции и явились основой для проведения дальнейших клинических исследований.

Практическая ценность результатов диссертации подкреплена патентом на изобретение РФ RU 2777073 C1 «Однодоменное антитело для нейтрализации вирусов и его модификации, и способ их применения для экстренной профилактики заболеваний, вызываемых вирусом гриппа А» (01.08.2022). Автором также были разработаны методики титрования ВГА на клеточной линии MDCK (эпителиальные клетки почки собаки) по методу бляшкообразования и по конечной точке цитопатического действия. Эти методы внедрены на уровне ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, что подтверждается соответствующим официальным актом о внедрении результатов в практику. Кроме того, основные научные положения, выводы и рекомендации исследования вошли в учебный курс аспирантуры данного учреждения и также подтверждены актом о внедрении.

#### **Значимость полученных соискателем результатов для развития соответствующей отрасли науки**

Полученные данные о структуре и иммунологических свойствах однодоменных и биспецифических антител, обуславливающие их эффекты, могут служить научно-практической основой дальнейших исследований в иммунологии, направленных как на разработку принципиально новых иммунобиологических препаратов для лечения инфекционных заболеваний, действие которых направлено на специфическое подавление инфекционного процесса без нецелевой иммуносупрессии, так и на изучение молекулярных механизмов иммунорегуляции и противовирусного действия

однодоменных антител. Результаты диссертационной работы расширяют представления в области разработки инновационных методов терапии и профилактики гриппа. Используемая в диссертационной работе методология получения нового иммунобиологического препарата способствует развитию биоинженерных технологий в иммунологии, создавая базу для разработки инновационных лекарственных препаратов на основе однодоменных антител, что соответствует современным тенденциям иммунобиотехнологии и трансляционной медицины. Разработка новых препаратов на основе биспецифических антител, несущих комбинации антител разной специфичности в единой молекуле, позволит в будущем улучшить качество жизни пациентов, снизить уровень инвалидизации и предотвратить развитие угрожающих жизни осложнений и смертельных исходов при различных вирусных инфекциях.

#### **Достоверность и апробация результатов исследования**

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, доказывается достаточным объемом проведенных исследований, адекватностью методологических подходов, а также применением современных методов статистической обработки результатов.

В диссертационном исследовании Ворониной Д.В. использованы современные иммунологические, молекулярно-биологические, бактериологические, вирусологические, биохимические и биоинформатические методы исследований в экспериментах на лабораторных животных, проведена большая исследовательская работа с музейными штаммами микробов, вирусов, бактериофагов, а клинические исследования выполнены на 42 добровольцах. Автором проведены доклинические исследования разработанного лекарственного препарата на основе биспецифического антитела - ГамИнфлюМаб и клинические исследования его безопасности, переносимости и фармакокинетики.

Все полученные диссертантом результаты сопровождаются анализом и сопоставляются с имеющимися в настоящее время данными, опубликованными в научной литературе. Дизайн проводимых исследований отвечает цели и задачам работы. Научные положения, выводы и рекомендации логично вытекают из результатов исследования, научно обоснованы математическим анализом, статистически достоверны, аргументированы, проиллюстрированы схемами, рисунками и таблицами, отражают суть исследования, удовлетворяют современным требованиям, предъявляемым к научным работам, и соответствуют цели и поставленным задачам. Результаты проведенных исследований доложены на различных научно-практических мероприятиях. По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК и/или индексируемых в системах Web of Science, Scopus, 2 тезисов докладов в сборниках материалов российских и международных конференций, получен 1 патент РФ на изобретение.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация Ворониной Дарьи Владимировны «Нейтрализующие однодоменные антитела для защиты от различных подтипов вируса гриппа А» соответствует пунктам 2, 3, 6 и 7 паспорта научной специальности 3.2.7. – Иммунология.

#### **Личный вклад автора**

Участие автора было представлено на всех этапах работы - разработан план и дизайн исследования, проведены эксперименты по получению иммунных библиотек и отбору специфических клонов однодоменных антител методом фагового дисплея, оценке НА-специфической и нейтрализующей активности антител *in vitro*, локализации эпитопов отобранных однодоменных антител и получению эскейп-мутантов ВГА, исследованию эффективности антител *in vivo* по показателям выживаемости и вирусной нагрузке в легких, изучению механизмов противовирусного действия отобранных антител, проведен анализ и обобщение полученных

результатов по всем разделам диссертации. Отдельные этапы работы были выполнены совместно с коллегами: секвенирование последовательностей VHH и всех полученных в процессе работы генетических конструкций, получение стабильных эукариотических клонов-продуцентов рекомбинантных белков и антител, а также транзиентная трансфекция клеток линии CHO-S для продукции антител, хроматографическая очистка рекомбинантных белков и антител, иммунизация животных, исследование способности антител активировать Fc-опосредованные механизмы с помощью репортерных клеточных линий.

Автором создана база данных, проведена статистическая обработка данных, интерпретация полученных результатов и подготовка публикаций, а также формулировка научных положений, выводов и практических рекомендаций.

#### **Содержание и оформление диссертационной работы**

Диссертационная работа Вороной Д.В. имеет классическую схему построения и состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, глава собственных исследований из 8 подразделов), заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы.

Диссертация представлена на 215 страницах, содержит 8 таблиц и 55 рисунков. Библиографический указатель цитируемой литературы содержит 300 источников, в том числе 20 отечественных и 180 зарубежных авторов.

Введение научной работы содержит обоснование актуальности и новизны работы, цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту, представлены научная новизна, научная и практическая значимость результатов исследования.

Первая глава представлена обзором литературы на 33 страницах и состоит из пяти подразделов. Проведённый автором обзор литературы характеризуется системностью и глубиной, что обеспечивает целостное понимание исследуемой проблемы.

Во второй главе на 29 страницах подробно представлены материалы и методы исследования, этапы работы, дизайн исследования и современные способы статистической обработки данных. Изложение материала отличается логичностью и последовательностью, что обеспечивает ясное понимание методологической основы исследования.

В третьей главе, состоящей из 8 подразделов, автор излагает результаты собственных исследований, включающих получение рекомбинантных антигенов НА вирусов гриппа типа А, получение тяжелоцепочечных моноклональных антител, специфичных к НА филогенетической группы 1 и 2, получение однодоменных антител, специфичных к НА, изучение активности этих антител *in vitro* и *in vivo*, а также доклинические исследования кандидатного лекарственного препарата на основе биспецифического антитела - ГамИнфлюМаб и клинические исследования его безопасности, переносимости и фармакокинетики. В результате исследований получены рекомбинантные антигены полноразмерного НА подтипов Н1 и Н3, а также его стеблевого домена; методом фагового дисплея проведена селекция однодоменных антител, специфичных к НА подтипов Н1 и Н3, из которых отобраны два наиболее перспективных клона. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что однодоменное антитело G2.3 связывает и нейтрализует различные штаммы ВГА подтипа Н1, а антитело D9.2 обладает способностью связывать широкий спектр штаммов ВГА подтипа Н3. Далее были получены варианты однодоменных антител G2.3-Fc и D9.2-Fc, содержащие Fc-фрагмент IgG1 человека, которые в экспериментах *in vitro* показали выраженное увеличение аффинности и нейтрализующей активности в сравнении с исходными формами антител. В ходе исследования противовирусной активности показано, что антитело G2.3-Fc нейтрализует ВГА путем блокирования слияния вирусной и эндосомальной мембран, в то время как антитело D9.2-Fc реализует свою активность за счет активации эффекторных клеток при Fc-FcγR-взаимодействии. На основе однодоменных антител G2.3 и D9.2 было создано

биспецифическое антитело D9.2-G2.3-Fc, обладающее активностью в отношении HA филогенетических групп 1 и 2. Показано, что данное антитело обеспечивает эффективную защиту лабораторных животных в дозе 10 мг/кг в профилактическом и в дозе 40 мг/кг в терапевтическом режимах введения при заражении летальными дозами ВГА подтипов H1N1 и H3N2. В результате доклинических исследований показано отсутствие токсического действия препарата, полученного на основе биспецифического антитела D9.2-G2.3-Fc, в дозировках, многократно превышающих терапевтическую. Далее были проведены клинические исследования безопасности и фармакокинетики препарата на основе биспецифического антитела D9.2-G2.3-Fc (раствор для внутривенного введения, 6 мг/мл, производитель филиал «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) на здоровых добровольцах с эскалацией дозы. Установлен благоприятный профиль безопасности и переносимости во всех режимах дозирования (1,2 мг/кг, 6 мг/кг и 12 мг/кг). Определены основные фармакокинетические параметры (период полувыведения – 320 часов; время достижения максимальной концентрации – 1 час). Показано отсутствие формирования антител к препарату в течение 90 дней после однократного введения.

Глава «Заключение» посвящена подведению итогов исследования и содержит научное сопоставление полученных автором данных с современными литературными источниками, а также обобщение результатов выполненной работы.

Выводы и практические рекомендации полностью соответствуют поставленным задачам исследования и логически вытекают из полученных результатов.

Автореферат оформлен в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011 и полностью отражает содержание диссертационной работы.

Тема диссертации, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют специальности 3.2.7. — Иммунология.

## **Рекомендации по использованию результатов, выводов и практических рекомендаций диссертационной работы**

Результаты диссертационного исследования Ворониной Д.В. по изучению свойств однодоменных и биспецифических антител, разработке методов их получения и экспериментальной и клинической апробации могут служить научно-практической основой дальнейших исследований, направленных как на разработку принципиально новых терапевтических средств для лечения инфекционных заболеваний, так и на изучение молекулярных механизмов развития вирусных инфекций. Несомненно, научному коллективу ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России следует продолжить и развивать соответствующие исследования.

Разработанные автором методики получения однодоменных антител, содержащих Fc-фрагменты IgG1 человека и создания на их основе биспецифических антител, а также сформулированные выводы и практические рекомендации могут быть включены в учебно-методические пособия и образовательные программы подготовки и повышения квалификации научно-педагогических кадров и врачей-иммунологов.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационной работы Ворониной Д.В. нет.

### **Заключение**

Таким образом, диссертация Ворониной Дарьи Владимировны на тему «Нейтрализующие однодоменные антитела для защиты от различных подтипов вируса гриппа А», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. — Иммунология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи - разработки препарата для этиотропной терапии инфекции, вызванной вирусом гриппа А, имеющей существенное значение для иммунологии в области изучения нейтрализующей активности антител и создания на их основе эффективных иммунобиологических

препаратов, что полностью соответствует критериям, установленным п.9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г.№842 (со всеми последующими редакциями Постановлений Правительства РФ), а ее автор Воронина Дарья Владимировна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология (биологические науки).

Диссертация, автореферат, настоящий отзыв обсуждены и одобрены на заседании проблемной комиссии «Проблемы инфектологии и лабораторной медицины» ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол № 41 от « 4 » марта 2026 года).

Заведующий кафедрой инфекционных  
болезней ФГБОУ ВО БГМУ  
Минздрава России, доктор  
медицинских наук, профессор  
450008, г. Уфа, ул. Ленина, д.3, [rectorat@bashgmu.ru](mailto:rectorat@bashgmu.ru), +7(347) 2721160,  
<https://bashgmu.ru>

Валишин Дамир Асхатович

Профессор кафедры лабораторной медицины  
Института развития образования  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России,  
доктор биологических наук,  
профессор  
450008, г. Уфа, ул. Ленина, д.3, [rectorat@bashgmu.ru](mailto:rectorat@bashgmu.ru), +7(347) 2721160,  
<https://bashgmu.ru>

Имельбаева Эльвира Аркамовна

Подпись Валишина Д.А. и Имельбаевой Э.А. Заверяю:  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д.3, [rectorat@bashgmu.ru](mailto:rectorat@bashgmu.ru), +7(347) 2721160, <https://bashgmu.ru>.

« 4 » марта 2026 г.