

ЗУБКОВА ОЛЬГА ВАДИМОВНА

**РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ
«ГАМ-КОВИД-ВАК» НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ
АДЕНОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА 26 И 5 СЕРОТИПОВ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ COVID-19**

3.2.7 – иммунология (биологические науки)

1.5.10 – вирусология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Научный консультант:

Гинцбург Александр Леонидович – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Габиров Александр Габирович – доктор химических наук, профессор, академик РАН, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Лобзин Юрий Владимирович – доктор медицинских наук, генерал-майор медицинской службы, профессор, академик РАН, президент федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства».

Куличенко Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Федерального казённого учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Защита состоится «20» февраля 2026 г. в 11 часов на заседании Диссертационного совета 21.1.018.03 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и на сайте Центра: <http://www.gamaleya.org>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Ермолаева С.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Новая коронавирусная инфекция обернулась беспрецедентной проблемой для всего мира. Первые сообщения об этой инфекции начали появляться в сети и различных неофициальных источниках еще в конце 2019 года. Они свидетельствовали о вспышке вирусных пневмоний, кластеризующихся в районе Хуананьского рынка морепродуктов в г. Ухань (провинция Хубэй, КНР) [Zhu, 2019; Zhu et al., 2020c; Du Toit, 2020]. Официальное сообщение о вспышке вирусной инфекции в данном регионе было сделано с небольшой задержкой 31 декабря 2019 года, и уже 9 января китайские ученые установили, что причиной является ранее неизвестный вариант коронавируса, родственник вирусу SARS-CoV, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), который был причиной вспышке коронавирусной инфекции в 2002 году в Южной Корее и ряде других азиатских стран. Новый коронавирус быстро распространился сначала на территории центрального Китая, а в марте был выявлен в США и различных странах ЕС [Rodriguez-Morales, 2020; Gralinski, 2020]. 11 февраля 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) провела глобальный форум по новой коронавирусной инфекции (Global Research and Innovation Forum on the novel coronavirus), где возбудителю было присвоено название SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2), инфекция была определена как COVID-19 (coronavirus disease 2019), а также была признана необходимость в разработке профилактических и терапевтических средств и выработаны первые рекомендации в их отношении [Zhu et al., 2020; Du Toit, 2020; Gorbalenya et al., 2020; Горенков и соавт., 2020]. Спустя месяц, 11 марта 2020 года, ВОЗ переклассифицировала чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения в пандемию COVID-19.

На территории Российской Федерации первые официально подтвержденные случаи заражения были зафиксированы 31 января 2020 года. Спустя несколько дней, 2 февраля, COVID-19 был внесен в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих. И уже в марте 2020 года, на фоне выраженного подъема заболеваемости COVID-19, Россия приостановила все типы транспортного сообщения с иностранными государствами, ввела комплекс ограничительных мер, а начиная с 30 марта 2020 года в Москве был объявлен режим самоизоляции (этому примеру впоследствии последовали и другие регионы страны). Предпринятые меры оказали определенное воздействие, но не смогли предотвратить массовое распространение вируса. Практически с первых месяцев пандемии стало очевидным, что наряду с карантинными мерами, требуются дополнительные

разработки, направленные на получение терапевтических и профилактических препаратов.

В связи с чем, одной из первостепенных задач здравоохранения стало создание вакцины для профилактики COVID-19, предназначенной не только для иммунизации групп высокого риска (медицинского персонала и лиц, находившихся в тесном контакте с заболевшими), но и для проведения массовой иммунизации.

Пандемия COVID-19 продемонстрировала, с одной стороны, уязвимость человечества перед новыми инфекционными заболеваниями, а с другой – показала важность наличия быстрых, масштабируемых технологий, позволяющих в короткие сроки разрабатывать и производить необходимые вакцинные препараты в масштабах не только страны, но и мира.

Степень разработанности темы. В начале 2020 года в ряде стран (России, США, Китае, Великобритании, ЕС и др.) стартовали интенсивные исследования по созданию вакцин против COVID-19. Ведущие международные и национальные регулирующие органы (ВОЗ, ЕМА, FDA и другие), проанализировав действующие нормативные документы и рекомендации, разработали новые или внесли изменения в существующие, с целью упрощения и ускорения процесса регистрации вакцин против COVID-19. В Российской Федерации в дополнение к уже имеющимся документам принято Постановление Правительства № 441.

В мае 2020 г. ВОЗ сообщила о 159 кандидатных вакцинах против COVID-19, находящихся в стадии разработки, 5 из которых проходили I–II фазу клинических исследований (КИ). При создании этих вакцин использовались различные технологические платформы, каждая из которых обладает уникальными преимуществами, но и имеет свои недостатки [Calina et al., 2020; Keech et al., 2020; Goepfert et al., 2021; Ganneru et al., 2021; Yadav et al., 2021; Mohandas et al., 2021; Baden et al., 2021; Polack et al., 2020; Sadoff et al., 2021; Voysey et al., 2021]. Четыре типа вакцин (субъединичные, инактивированные, вирусные векторные вакцины и мРНК-вакцины) по результатам доклинических и клинических исследований оказались эффективными, на их долю приходилось более 80% всех создаваемых и изучаемых препаратов.

Стоит отметить, что ключевые элементы векторных вакцин против COVID-19 были уже разработаны ранее применительно к другим вирусным заболеваниям, для которых отсутствовали эффективные средства защиты, например, для профилактики Ближневосточного респираторного синдрома (БВРС) или болезни, вызываемой вирусом Эбола (БВВЭ) [Geisbert et al., 2011;

Tapia et al., 2016; Dolzhikova et al., 2017; Venkatraman et al., 2018; Matz et al., 2019; Должикова и соавт., 2020; Ковыршина и соавт., 2020; Zhao et al., 2021].

В качестве основной технологической платформы нами были выбраны репликативно-дефектные рекомбинантные аденовирусы. Аденовирусная платформа доказала свою безопасность в более чем 500 клинических исследованиях, проведенных до начала пандемии COVID-19. Вакцинные препараты на основе рекомбинантных аденовирусных векторов против болезни, вызываемой вирусом Эбола, получили более 100000 человек [Henaou-Restrepo et al., 2015; Henaou-Restrepo et al., 2017]. Более того, безопасное применение у людей доказано не только для рекомбинантных вакцин и препаратов на основе репликативно-дефектных аденовирусов, но и в отношении живых аденовирусных вакцин. Опыт применения этих препаратов в армии США, где живыми аденовирусами 4 и 7 серотипов (Ад4 и Ад7) в течение многих лет проводится вакцинация новобранцев, показал безопасность вакцины и отсутствие какой-либо разницы в структуре соматических патологий у вакцинированных военных и представителей контрольной когорты, не получавшей вакцину [Lyons et al., 2008; Collins et al., 2020].

Сотрудниками центра ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России в рамках выполнения Государственного задания Минздрава России (регистрационный номер 114112770009) была разработана и зарегистрирована для гражданского применения вакцина «ГамЭвак-Комби» против болезни, вызываемой вирусом Эбола. В основе этой вакцины лежит использование рекомбинантных векторов на основе вируса везикулярного стоматита и аденовируса человека 5 серотипа, экспрессирующих модифицированный ген гликопротеина GP вируса Эбола вида Заир. Данная вакцина была применена в Республике Гвинея в рамках пострегистрационных исследований у более чем 2000 добровольцев [Logunov et al., 2025]. Было показано, что вакцина является безопасной и эффективной. Впервые в медицинской практике был применен прайм-буст подход, который позволил индуцировать длительный иммунный ответ у добровольцев (как минимум 2 года у более чем 90% участников) [Dolzhikova et al., 2017; Logunov et al., 2025].

В последующих исследованиях сотрудниками центра ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России также была разработана вакцина «Гам-БВРС-Вак» против родственного бетакоронавируса MERS-CoV, вызывающего Ближневосточный респираторный синдром (БВРС). В этой вакцине впервые был реализован подход с использованием двух серотипов аденовирусов – Ад26 и Ад5 [Ожаровская и соавт., 2019; Должикова и соавт., 2020; Ковыршина и соавт., 2020]. Была продемонстрирована высокая эффективность и безопасность

данного вакцинного препарата в доклинических исследованиях, а также высокая иммуногенность и безопасность в клинических исследованиях (II фаза КИ была завершена к концу 2019 года) [Должикова и соавт., 2020]. Вакцина «Гам-БВРС-Вак» против MERS-CoV использовалась по схеме прайм-буст иммунизации, при которой сначала вводился первый компонент – рекомбинантный Ад26, а затем, через 21 день, второй компонент – рекомбинантный Ад5. Таким образом, к моменту начала разработки вакцины против новой коронавирусной инфекции были решены основные регуляторные (оценка безопасности и эффективности) и технологические (производственные) вопросы в отношении рекомбинантных аденовирусов. И именно эта платформа стала первой и основной в качестве базы для создания вакцины против новой коронавирусной инфекции.

Цели и задачи исследования. Цель работы состояла в создании комбинированной векторной вакцины на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующих протективный антиген коронавируса SARS-CoV-2, для профилактики COVID-19, изучение ее безопасности и эффективности. Задачи исследования:

1. Выбрать протективный антиген коронавируса SARS-CoV-2 и сконструировать рекомбинантные векторы на основе аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующие протективный антиген.
2. Провести доклинические исследования иммуногенности, эффективности и безопасности кандидатной вакцины.
3. Оценить безопасность и иммунологическую эффективность вакцины в рамках клинических исследований I-II фазы у добровольцев 18-60 лет.
4. Проанализировать безопасность и иммуногенность вакцины в рамках клинических исследований I-II фазы у добровольцев старше 60 лет.
5. Оценить профиль безопасности вакцины в рамках пострегистрационных клинических исследований.
6. Исследовать иммунологическую эффективность вакцины в рамках пострегистрационных клинических исследований.
7. Определить эпидемиологическую эффективность вакцины в рамках пострегистрационных клинических исследований.

Научная новизна. Впервые сконструированы векторы на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, кодирующие полноразмерный ген гликопротеина S вируса SARS-CoV-2 с кодон-оптимизированной нуклеотидной последовательностью для экспрессии в клетках млекопитающих (rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2). rAd5-S-CoV2 является репликативно-дефектным в результате делеции E1-области генома

аденовируса. Дополнительно в геноме удалена E3-область для увеличения пакующей емкости. В геноме rAd26-S-CoV2 дополнительно проведена модификация E4-области для эффективной продукции рекомбинантного вируса в производственной клеточной линии HEK 293.

В экспериментах *in vivo* показана способность полученных рекомбинантных аденовирусов индуцировать гуморальный и клеточный иммунный ответ. Детальный анализ гуморального иммунного ответа продемонстрировал, что специфические IgG представлены всеми четырьмя изотипами с преобладанием изотипа IgG1 для rAd26-S-CoV2 и IgG1, IgG2a для rAd5-S-CoV2. Иммунизация животных препаратами рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 повышает процент пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов после антигенной рестимуляции *in vitro*.

Впервые разработан состав кандидатной комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» для профилактики COVID-19 и определена схема иммунизации. «Гам-КОВИД-Вак» производится в виде жидкого замороженного препарата, состоящего из двух компонентов. Компонент I содержит $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$ вирусных частиц rAd26-S-CoV2. Компонент II содержит $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$ вирусных частиц rAd5-S-CoV2. Вакцина предназначена для внутримышечного введения. Вакцинация проводится в режиме прайм-буст: вначале вводится компонент I, затем, через 3 недели (21 день) – компонент II.

Впервые показано, что вакцина «Гам-КОВИД-Вак» индуцирует формирование напряженного гуморального и клеточного иммунного ответа у различных видов животных (грызуны, нечеловекообразные приматы). Выявлен дозозависимый характер иммунного ответа: по мере увеличения дозы вакцины возрастал титр специфических антител. Специфический иммунитет после вакцинации сохраняется на высоком уровне в течение не менее 12 месяцев.

Впервые доказана протективная активность вакцины «Гам-КОВИД-Вак», которая обеспечивает 100% защиту сирийских хомячков с индуцированным иммунодефицитом и 100% hACE2-трансгенных мышей от летальной инфекции SARS-CoV-2.

Проведенный полный комплекс доклинических исследований разработанной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» подтвердил ее безопасность, иммуногенность и защитную эффективность.

Впервые в рамках клинических исследований продемонстрирована безопасность и хорошая переносимость разработанной вакцины «Гам-КОВИД-Вак». У взрослых здоровых добровольцев 18–60 лет и добровольцев старше 60

лет, вакцинированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст, серьезных нежелательных явлений не обнаружено.

Впервые в рамках клинических исследований I – II фазы показано, что гетерологичная иммунизация в режиме прайм-буст позволяет сформировать более высокий специфический гуморальный и клеточный иммунный ответ, чем при вакцинации каждым компонентом по отдельности. Показано отсутствие перекрестного иммунного ответа к векторам Ад26 и Ад5.

Впервые в рамках пострегистрационного клинического исследования показано, что вакцина обладает благоприятным профилем безопасности, непредвиденных серьезных нежелательных явлений не выявлено. Вакцинация добровольцев «Гам-КОВИД-Вак» способствует формированию напряженного поствакцинального гуморального иммунного ответа. Иммунизация в режиме прайм-буст приводит к формированию напряженного антигенспецифического клеточного звена противoinфекционного иммунитета.

Впервые в рамках пострегистрационного клинического исследования определена эпидемиологическая эффективность вакцины. С наибольшей эффективностью вакцина защищает от средней и тяжелой форм заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанная в настоящем исследовании технологическая платформа на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов отвечает задачам и потребностям системы здравоохранения РФ не только в отношении эпидемиологического благополучия населения по COVID-19, но и может быть использована для создания безопасных и эффективных вакцинных препаратов против широкого спектра патогенных микроорганизмов. Штаммы рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующие ген гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2, депонированы в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России под номерами 2942 и 2941, соответственно.

На основании полученных результатов исследований разработана и утверждена в установленном порядке нормативная документация на производство и контроль качества, а также инструкция по применению вакцины «Гам-КОВИД-Вак».

Детально изученные безопасность и иммуногенность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в доклинических исследованиях расширяют возможности применения препаратов на основе рекомбинантных аденовирусов в клинической практике.

Полученные данные об особенностях иммунного ответа на введение разработанной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» углубляют знания о формировании протективного иммунного ответа против новой коронавирусной инфекции, что позволяет использовать вакцину как эффективное средство для борьбы с пандемией.

Доказанная в данной работе низкая реактогенность, высокая иммуногенность и эффективность комбинированной векторной вакцины на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов позволяют использовать технологическую платформу для создания иммунобиологических препаратов нового поколения против особо опасных и социально-значимых инфекционных заболеваний.

По результатам клинических исследований комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» зарегистрирована и разрешена к клиническому применению (ЛП-006395 от 11.08.2020 г.).

Практическая ценность работы подкреплена 11 патентами РФ на изобретение, два из которых включены в базу победителей номинации Роспатента «100 лучших изобретений России» за второе полугодие 2020 года (патенты РФ RU 2731356 и RU 2731342 от 22.08.2020 г.).

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования состоит из сочетания вирусологических, молекулярно-генетических, физико-химических, генно-инженерных, иммунологических и биоинформационных методов.

Положения, выносимые на защиту. Рекомбинантные аденовирусы человека 5 и 26 серотипов, экспрессирующие ген гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2, могут быть использованы для производства комбинированной векторной вакцины для профилактики COVID-19.

Полный комплекс проведенных доклинических исследований позволил доказать безопасность, иммуногенность и эффективность не только рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов в качестве компонентов вакцины, но и в условиях оригинального совместного использования в режиме прайм-буст иммунизации.

В ходе клинических исследований разработанная комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» продемонстрировала благоприятный профиль безопасности и переносимости, а также высокую иммуногенность у здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 60 лет.

Проведенные клинические исследования с участием добровольцев старше 60 подтвердили безопасность и хорошую переносимость вакцины «Гам-КОВИД-Вак». Схема прайм-буст иммунизации вызывает формирование

выраженного и продолжительного гуморального и клеточного иммунного ответа.

Комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» безопасна, обладает высокими иммуногенными и защитными свойствами, что позволило проводить массовую вакцинацию против COVID-19 в условиях пандемии. Вакцина «Гам-КОВИД-Вак», использующая технологическую платформу на основе рекомбинантных аденовирусных векторов 26 и 5 серотипов, стала первой в мире зарегистрированной вакциной для профилактики COVID-19.

Личный вклад автора. Автором лично выполнен аналитический обзор литературы по теме и проведены планирование и организация экспериментальных исследований. Автором лично осуществлено конструирование рекомбинантных аденовирусов человека 5 и 26 серотипов, экспрессирующих гликопротеин S коронавируса SARS-CoV-2. Автором лично проведено изучение физико-химических, молекулярно-биологических и иммунологических свойств сконструированных рекомбинантных аденовирусных векторов. Автором лично отработаны условия накопления рекомбинантных Ад5 и Ад26. Протективные свойства рекомбинантных аденовирусных векторов, экспрессирующих гликопротеин S вируса SARS-CoV-2, изучены совместно с к.б.н. Должиковой И.В., зав. лаб. Государственной коллекции вирусов (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Секвенирование генов проводилось совместно с к.б.н. Ворониной О.Л., зав. лаб. анализа геномов (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Масштабирование технологии производства рекомбинантных аденовирусов была выполнена вместе с к.б.н. Семихиным А.С, зам. директор филиала «Медгамал» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Исследование клеточного иммунного ответа проводилось совместно с к.б.н. Тухватулиным А.И, зав. лаб. микоплазм и L-форм бактерий (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Исследования иммуногенной и протективной активности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» на макаках-резус были выполнены совместно с сотрудниками ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Исследования иммуногенной и протективной активности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» на игрунках были выполнены совместно с сотрудниками ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН». Планирование доклинических и клинических исследований комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» проведены при непосредственном участии автора. Доклинические исследования проводились в сотрудничестве с центром доклинических исследований ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России. Клинические исследования проводились совместно с

Лубенец Н.Л., начальником отдела внедрения инновационных лекарственных средств и медицинских изделий в производство (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Во всех совместных исследованиях по теме диссертации, наряду с личным участием в их проведении, автору принадлежит обработка и интерпретация экспериментальных данных. Все материалы, использованные в диссертационной работе, проанализированы и обобщены лично автором.

Степень достоверности и апробация результатов. Результаты работы основаны на проведении всех исследований на высоком методическом уровне с использованием современных методов анализа, качественных расходных материалов и оборудования. Достоверность результатов подтверждена статистическим анализом с использованием различных статистических критериев: U-критерию Манна-Уитни для оценки различий между двумя независимыми группами; T-критерию Вилкоксона для оценки различий между двумя группами парных или независимых измерений; критерий Д'Агостино-Пирсона для оценки нормальности распределения; ранговый коэффициент корреляции Спирмена для связи между порядковыми переменными или количественными данными, которые не подчиняются нормальному распределению.

Тема диссертации утверждена на ученом совете ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 01 июня 2023 г. Диссертация была апробирована 14 мая 2025 г. на совместной научной конференции отделов генетики и молекулярной биологии бактерий, медицинской микробиологии, иммунологии и Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Основные положения диссертации были представлены на следующих российских и международных научных конференциях, форумах, научных школах: международный форум «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2018); международная конференция «Future biomedicine, proceedings of conference series» (Moscow, 2018); XXXI зимняя молодежная научная школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2019); международная конференция «Perspective technologies in vaccination and immunotherapy» (Moscow, 2020); IX всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 2022); XVI международная научно-практическая конференция «Современные достижения медицинской науки» (Казань, 2022); российская научно-практическая конференция «Управляемые и

другие социально значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2023); всероссийская конференция молодых ученых «Вирусные инфекции – от диагностики к клинике» (Санкт-Петербург, 2023); IV международный форум «Дни вирусологии 2023», (Санкт-Петербург, 2023); международная конференция «Scientific research of the SCO countries: synergy and integration» (Beijing, PRC, 2024).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации, выносимые на защиту, соответствуют п. 2, 3, 6, 7 и 9 паспорта специальности 3.2.7 – иммунология (биологические науки) и п. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 11 паспорта специальности 1.5.10 – вирусология (биологические науки).

Публикации. По основным результатам диссертационного исследования опубликовано: 18 научных статей (в журналах рекомендованных ВАК РФ, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования) и 10 тезисов международных и отечественных научных конференций. Получено 11 патентов на изобретения РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения и основной части, включающей четыре главы (обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов), выводов, заключения, списка цитируемой литературы и приложений. Диссертация изложена на 377 страницах, включает 27 таблиц, 74 рисунка и 5 приложений. Список цитируемой литературы включает 464 источника, из которых 46 отечественных и 413 – зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1 Материалы исследования

В экспериментальной части работы были использованы клетки линии НЕК 293 (почка эмбриона человека, трансформированные аденовирусом человека 5 серотипа) и А549 (эпителиальные клетки аденокарциномы легкого человека), полученные из Российской коллекции клеточных линий позвоночных. Сертифицированная для производства вакцин суспензионная культура клеток НЕК 293 была адаптирована к росту в бессывороточной среде CDM4НЕК293 (HyClone, США) с добавлением глутамина. Клетки Vero E6 (эпителиальные клетки почки африканской зеленой мартышки) получены из АТСС, США (кат. номер CRL-1586). Лабораторные штаммы аденовируса человека 26 серотипа и аденовируса человека 5 серотипа, а также пандемический вирус SARS-CoV-2

штамма Wuhan-Hu-1 (hCoV-19/Russia/Moscow_PMV1-1/2020) были получены из Государственной коллекции вирусов института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Работу с плазмидными векторами проводили в бактериальных клетках *Escherichia coli* лабораторных штаммов DH5 α (New England Biolabs, США) и BJ5183 (Stratagene, США).

Олигонуклеотиды синтезировали в ООО «Синтол» и ЗАО «Евроген». Нуклеотидная последовательность полноразмерного гена белка S коронавируса SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1, оптимизированного под экспрессию в клетках млекопитающих, была искусственно синтезирована в ЗАО «Евроген».

Мыши линий C57BL/6 и BALB/c получены из питомника ФИБХ РАН НПП «Питомник лабораторных животных г. Пущино». Трансгенные мыши K18-hACE2 (F1 потомство) получены от скрещивания трансгенных самцов B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2Prlmn/J (The Jackson Laboratory) с самками C57BL/6. Сирийские хомячки (*Mesocricetus auratus*) получены из питомника ФИБХ РАН НПП «Питомник лабораторных животных г. Пущино». Обезьяны вида обыкновенная игрунка (*Callithrix jacchus*) с подтвержденным статусом здоровья, рожденные и выращенные в условиях изолированного содержания в виварии, сертифицированном для работы с патогенами III–IV группы опасности, содержались в ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН». Обезьяны вида макак-резус (*Macaca mulatta*), полученные из ФГБНУ «НИИ МП», содержались в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Для определения мышинных антигенспецифических антител (IgG, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3) использовали следующие вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена: a9044, ab97240, ab97245, ab97250, ab97260 (Abscam, Великобритания). Для определения IgG антител обезьян использовали антитела кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена, специфичные к IgG обезьяны (A2054, Sigma Aldrich, США). Для иммуноблотинга использовали антитела anti-human IgG HRP (A8667, MilliporeSigma, США). В работе использовали антитела, специфичные к маркерам CD3, CD4 и CD8, меченные флюорофорами для проточной цитофлуориметрии, фирмы BD Biosciences (США) (кат. номер 558431, 558625). Для повторной стимуляции иммунокомпетентных клеток *in vitro* использовали рекомбинантный гликопротеин S вируса SARS-CoV-2 (Sino Biological, YP_009724390.1, КНР).

1.2 Методы исследования

Генно-инженерные методы включали гидролиз ДНК специфическими эндонуклеазами рестрикции, электрофорез в горизонтальном

агарозном геле, клонирование фрагментов ДНК с выступающими концами с использованием T4 ДНК-полимеразы, дефосфорилирование 5'-концов плазмидного вектора щелочной фосфатазой (rSAP), лигирование фрагментов ДНК ДНК-лигазой бактериофага T4.

Биоинформатические методы включали анализ нуклеотидных последовательностей в программе «Geneious 10.0.9», анализ аминокислотных последовательностей в программах BLAST и «Geneious 10.0.9».

К бактериологическим методам относились получение компетентных клеток *E. coli* и трансформация, гомологичная рекомбинация в клетках *E. coli*, идентификация рекомбинантных клонов на селективной среде с антибиотиком.

Молекулярно-биологические методы включали полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). ПЦР проводили в автоматическом режиме на термоциклере T100™ Thermal Cycler или CFX 96 Real-Time PCR Detection System с использованием каналов красителей SYBR и HEX. Нуклеотидные последовательности плазмидных и вирусных ДНК определяли методом полногеномного секвенирования на генетическом анализаторе 3130 Genetic Analyzer. Выделение нуклеиновых кислот из вирусного препарата проводили с использованием набора Wizard® Genomic DNA Purification Kit для ДНК и реагента Trizol для РНК.

В работе были использованы следующие физико-химические методы: белковый электрофорез в 12% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, метод динамического рассеяния света для определения размера вирусных частиц, методы хроматографической очистки вирусных препаратов, спектрофотометрический метод для определения количества аденовирусных частиц.

Вирусологические методы включали трансфекцию клеток методом липофекции для получения рекомбинантных аденовирусных векторов, накопление рекомбинантных аденовирусов, накопление вируса SARS-CoV-2, титрование вирусов методом ТЦД50, реакцию микронеutralизации.

К иммунологическим методам относились иммуноблоттинг для определения экспрессии гликопротеина S вируса SARS-CoV-2, иммуноферментный анализ для определения специфических антител в сыворотке крови после иммунизации рекомбинантными аденовирусами, определение Т-клеточного ответа у иммунизированных животных по количеству пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов *in vitro*. Определение Т-клеточного ответа по продукции ИФН γ , определение концентрации цитокинов.

Доклинические исследования и все работы с лабораторными животными выполнены согласно ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики»; СП № 1045-73 по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев); «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (2005), включая «Директиву Европейского Парламента и Совета 2010/63/EU от 22 сентября 2010 года». Работа с животными была одобрена комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России (протокол № 9 от 16 апреля 2021 г., протокол № 24 от 21 апреля 2022 г.), Этическим комитетом ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (протокол №110520-1 от 11 мая 2020 г.).

На разных видах лабораторных животных проводили оценку безопасности по следующим критериям: острая и хроническая токсичность, репродуктивная токсичность, эмбриотоксичность, иммунотоксичность, гиперчувствительность немедленного и замедленного типов, местно-раздражающее действие, аллергические реакции, а также биораспределение компонентов вакцины в организме экспериментальных животных. Комплексную оценку специфической иммунологической активности вакцины проводили на разных видах животных по нескольким параметрам: определение уровня специфических IgG антител к вирусу SARS-CoV-2, а также изотипов специфических IgG антител в сыворотке крови иммунизированных животных; определение вируснейтрализующих антител (ВНА), оценка количества пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов *in vitro* после повторной стимуляции клеток рекомбинантным S-белком вируса SARS-CoV-2; определение продукции ИФН γ в культуре Т-лимфоцитов.

Клинические исследования одобрены Министерством здравоохранения РФ, локальным этическим комитетом ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России и выполнены согласно рекомендациям ICH E6 «Надлежащая клиническая практика» и Правилам надлежащей клинической практики, установленным Евразийским Экономическим Союзом, и зарегистрированы на <http://www.clinicaltrials.gov/> под идентификаторами NCT04436471, NCT04587219 и NCT04530396.

В соответствии с утвержденными протоколами было проведено три самостоятельных клинических исследования вакцины «Гам-КОВИД-Вак». Первое исследование проходило как открытое исследование безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак» с участием здоровых добровольцев в возрасте 18-60 лет. Следующие

исследования проходили параллельно: открытое исследование безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак» при участии добровольцев старше 60 лет и рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое многоцентровое клиническое исследование эффективности, иммуногенности и безопасности комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в параллельных группах для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

Переносимость и безопасность оценивали на основании изучения частоты и выраженности местных (область места введения препарата) и общих (системные реакции организма на введение препарата) реакций, а также регистрации нежелательных явлений (НЯ) в ходе исследования. К оцениваемым критериям относились: данные о развитии нежелательных явлений, результаты оценки показателей жизненно важных функций (АД, ЧСС, температура тела), результаты инструментальных исследований (ЭКГ), результаты физикального осмотра, результаты клинического анализа крови, биохимического анализа крови и анализа мочи.

Для оценки иммуногенности использовали методологический подход, основанный на сравнении показателей напряженности иммунитета со значениями показателей до введения исследуемого препарата. К показателям напряженности гуморального иммунного ответа относились: уровень сероконверсии, средние геометрические титры антител, специфичных к гликопротеину S вируса SARS-CoV-2, и титры нейтрализующих антител. Показатели напряженности клеточного иммунного ответа определяли по проценту пролиферирующих Т-лимфоцитов и приросту концентрации ИФН γ в культуре Т-лимфоцитов.

Эпидемиологическую эффективность оценивали на основании отношения шансов (OR). Отношение шансов = (число заболевших в группе вакцины / число незаболевших в группе вакцины) / (число заболевших в группе плацебо / число незаболевших в группе плацебо).

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютерных программ GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США), а также «Excel» (Microsoft, США). При анализе данных использовали U-критерий Манна-Уитни (для сравнения различных количественных показателей между двумя независимыми группами) и критерий Вилкоксона (для сравнения среднегеометрических титров антител до и после вакцинации внутри одной группы). Нормальность распределения определяли с помощью обобщенного теста Д'Агостино-Пирсона. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.1 Конструирование и характеристика рекомбинантных векторов на основе аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующих ген протективного антигена коронавируса SARS-CoV-2

Ключевым моментом при создании вакцины является выбор антигена и рекомбинантного вирусного вектора. Из четырех структурных белков вируса SARS-CoV-2 три индуцируют развитие специфического иммунного ответа и, следовательно, обладают протективным потенциалом. Для оценки протективных свойств поверхностных белков вируса SARS-CoV-2 нами были сконструированы рекомбинантные аденовирусы человека 5 серотипа, несущие гены S-, M- и N-белков (rAd5-S, rAd5-M и rAd5-N, соответственно), которые использовали для внутримышечной иммунизации трансгенных мышей Tg(K18-ACE2)2Pr1mn в дозе 10^9 вирусных частиц (в.ч.) и последующем интраназальном заражении вирусом SARS-CoV-2 штамм Wuhan-Hu-1 в дозе 10^5 ТЦД50 (рисунок 1).

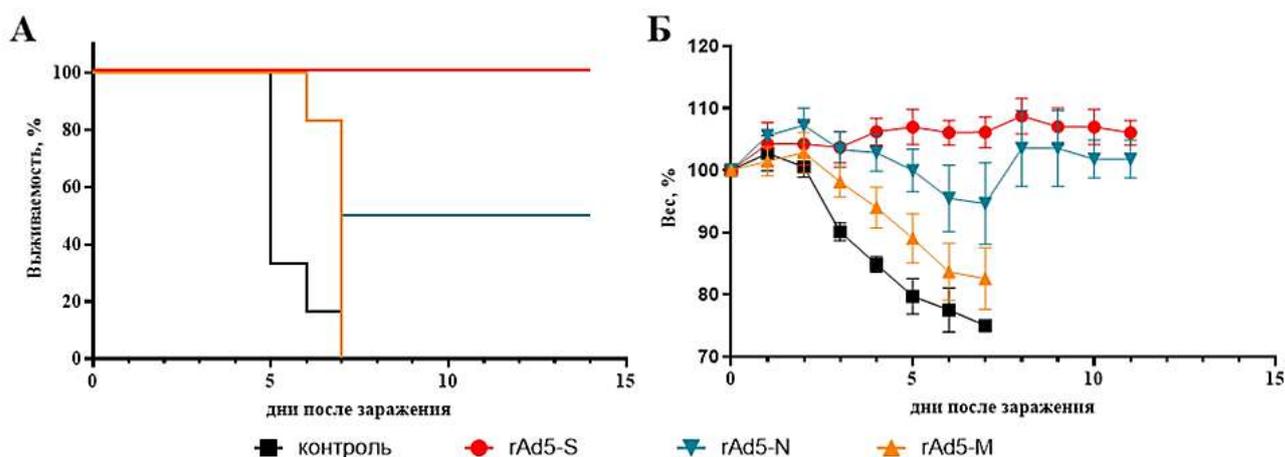


Рисунок 1 – Выживаемость (А) и динамика массы (Б) hACE2-трансгенных мышей, иммунизированных rAd5-S, rAd5-M и rAd5-N и контрольной групп после заражения вирусом SARS-CoV-2.

Таким образом, из трех структурных белков вируса SARS-CoV-2 только гликопротеин S позволяет сформировать протективный иммунный ответ, который защищает 100% животных от летальной инфекции.

Далее был определен тип рекомбинантного вирусного вектора. Выбор аденовируса в качестве вектора обусловлен его биологическими свойствами. Среди них, прежде всего, стоит отметить эффективность трансдукции клеток млекопитающих и высокий уровень экспрессии целевого антигена непосредственно в этих клетках. Синтез целевого антигена обеспечивает эффективную доставку его эпитопов к главному комплексу

гистосовместимости антигенпрезентирующих клеток для распознавания Т-лимфоцитами и последующей индукции В- и Т-клеточного иммунного ответа. Кроме того, аденовирусный вектор может трансдуцировать непосредственно антигенпрезентирующие клетки. При этом сам вектор обладает потенциальным адьювантным эффектом.

Среди большого количества аденовирусов наиболее изучены Ад5 и Ад26, а использование их в схеме гетерологичной прайм-буст вакцинации приводит к формированию выраженного и длительного адаптивного иммунитета [Должикова и соавт., 2020; Ковыршина и соавт., 2020]. Рекомбинантные векторы на основе Ад5 и Ад26, экспрессирующие оптимизированный ген нативного варианта гликопротеина S вируса SARS-CoV-2 (rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2), получали по технологии, описанной нами ранее [Logunov et al., 2007; Garas et al., 2014; Зубкова и соавт., 2024] (рисунок 2).

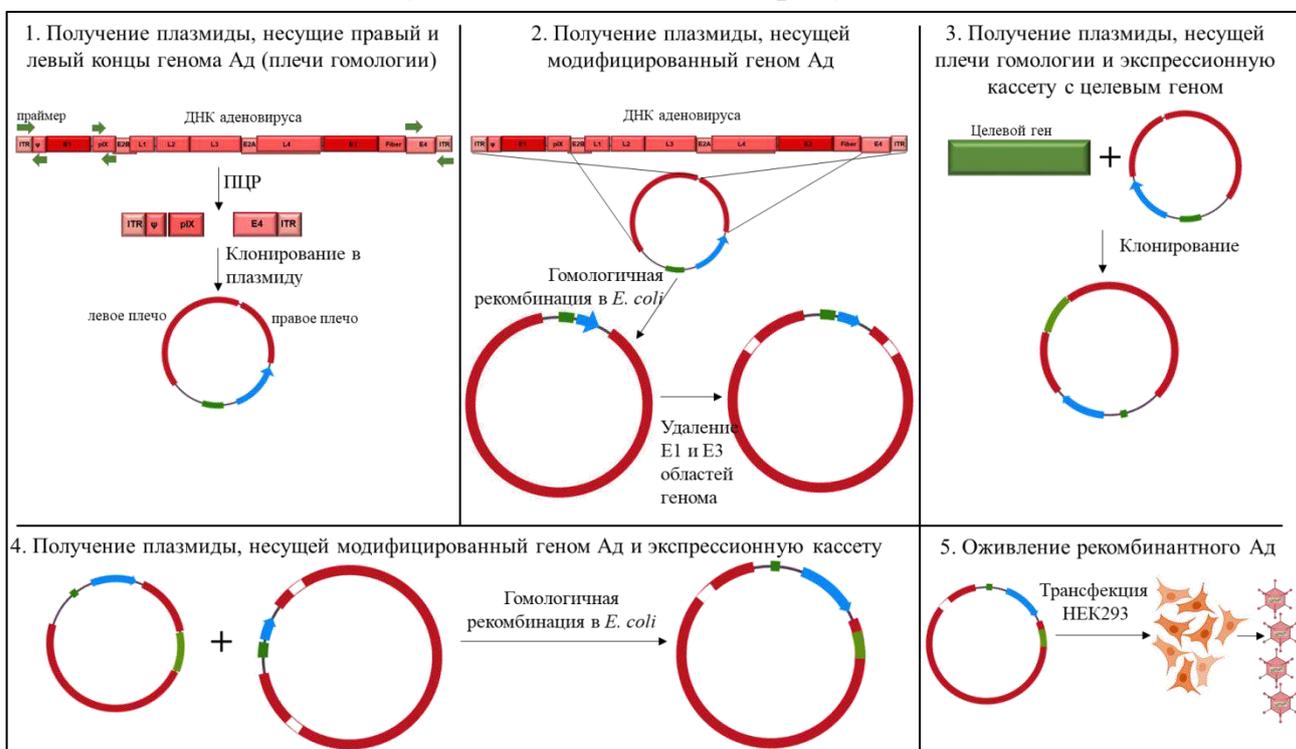


Рисунок 2 – Схема получения рекомбинантного аденовируса.

С использованием стандартных методов молекулярного клонирования и генной инженерии был сконструирован набор плазмид: 1) плазмиды, несущие правый и левый концы генома (плечи гомологии) Ад26 или Ад5; 2) плазмиды, несущие модифицированный геном (с делециями E1- и E3-областей) Ад26 или Ад5; 3) плазмиды, несущие экспрессионную кассету (CMV-промотор, целевой ген (гликопротеин S вируса SARS-CoV-2), сигнал полиаденилирования) и плечи гомологии; 4) плазмиды, несущие модифицированный геном Ад26 или Ад5 и экспрессионную кассету с оптимизированным под экспрессию в клетках

человека геном гликопротеина S вируса SARS-CoV-2. rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 получали в перmissive клетках линии HEK 293.

Таким образом, были сконструированы два рекомбинантных репликативно-дефектных аденовируса: rAd26-S-CoV2 – рекомбинантный вектор на основе аденовируса человека 26 серотипа, кодирующий полноразмерный ген гликопротеина S вируса SARS-CoV-2 с кодон-оптимизированной нуклеотидной последовательностью для экспрессии в клетках млекопитающих, и rAd5-S-CoV2 – рекомбинантный вектор на основе аденовируса человека 5 серотипа, кодирующий кодон-оптимизированный полноразмерный ген гликопротеина S вируса SARS-CoV-2.

Дальнейшее накопление rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 проводили в суспензионных клетках линии HEK 293. Использование суспензионной культуры клеток позволяет масштабировать процессы культивирования до производственных биореакторов. Очистка рекомбинантных вирусов включала три последовательных стадии: диафильтрацию с использованием мембран с пределом отсека до 300 кДа, анионообменную и мультимодальную хроматографию. Полученные рекомбинантные аденовирусы rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 были охарактеризованы по различным параметрам, которые доказали их чистоту и функциональность.

Комплексную оценку специфической иммунологической и протективной активности полученных rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2, а также при использовании стратегии гетерологичной прайм-буст иммунизации проводили на мышах (рисунки 3, 4).

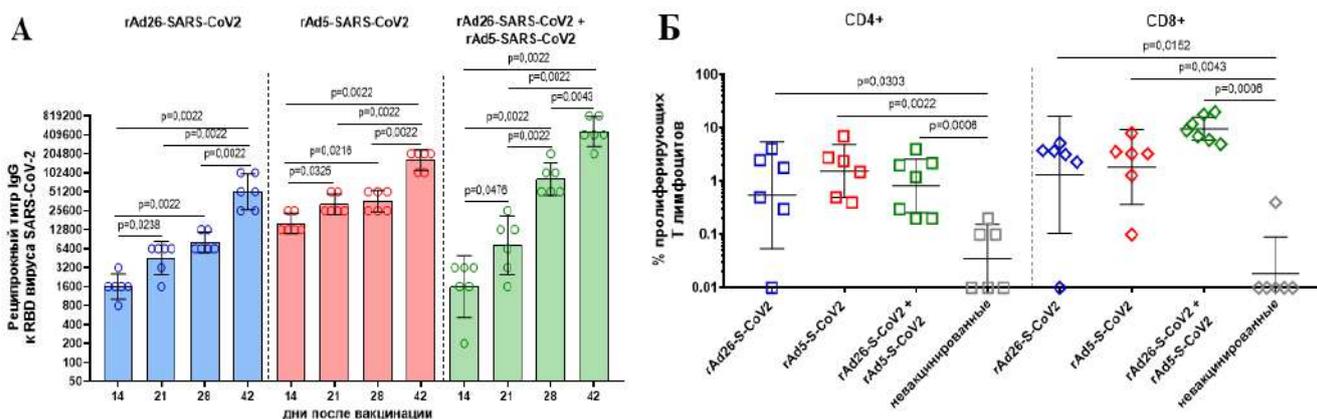


Рисунок 3 – Изменение титров IgG антител (А), анализ процента пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов (Б) у мышей после иммунизации рекомбинантными аденовирусами rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2.

При изучении индукции гуморального иммунного ответа у животных после введения rAd26-S-CoV2 или rAd5-S-CoV2, а также в режиме прайм-буст

(введения rAd26-S-CoV2, а затем через 21 день rAd5-S-CoV2) в дозе 10^{10} в.ч. наблюдали образование антиген-специфических IgG антител в высоких титрах (рисунок 3А). Уже через 14 дней после иммунизации отмечено наличие IgG специфических антител в достаточно высоком титре, который продолжал расти, и к 42-му дню достигал значения 1:51200 для rAd26-S-CoV2, 1:162550 для rAd5-S-CoV2 и 1:459760 при гетерологичной прайм-буст иммунизации. При изучении развития клеточных реакций наблюдали статистически достоверную разницу в значениях пролиферирующих CD4+ и CD8+ субпопуляций Т-лимфоцитов в сравнении с неиммунизированными животными (рисунок 3Б).

Протективность оценивали на летальной модели сирийских хомячков с индуцированным иммунодефицитом. Животных внутримышечно иммунизировали rAd26-S-CoV2 или rAd5-S-CoV2, а также в режиме прайм-буст (rAd26-S-CoV2 + rAd5-S-CoV2) в дозе 10^{10} в.ч. Через 28 дней после начала иммунизации проводили иммуносупрессию (дексаметазон 10 мг/кг ежедневно и циклофосфамид 150мг/кг за 3 дня до заражения), а еще через 7 дней животных заражали вирусом SARS-CoV-2 штамм Ухань интраназально в дозе 10^6 ТЦД50.

Критериями оценки тяжести течения инфекции у животных были поведение, внешний вид, вес и выживаемость. Критерием оценки эффективности вакцины было снижение летальности в группе вакцинированных животных по сравнению с контрольной группой (рисунок 4).

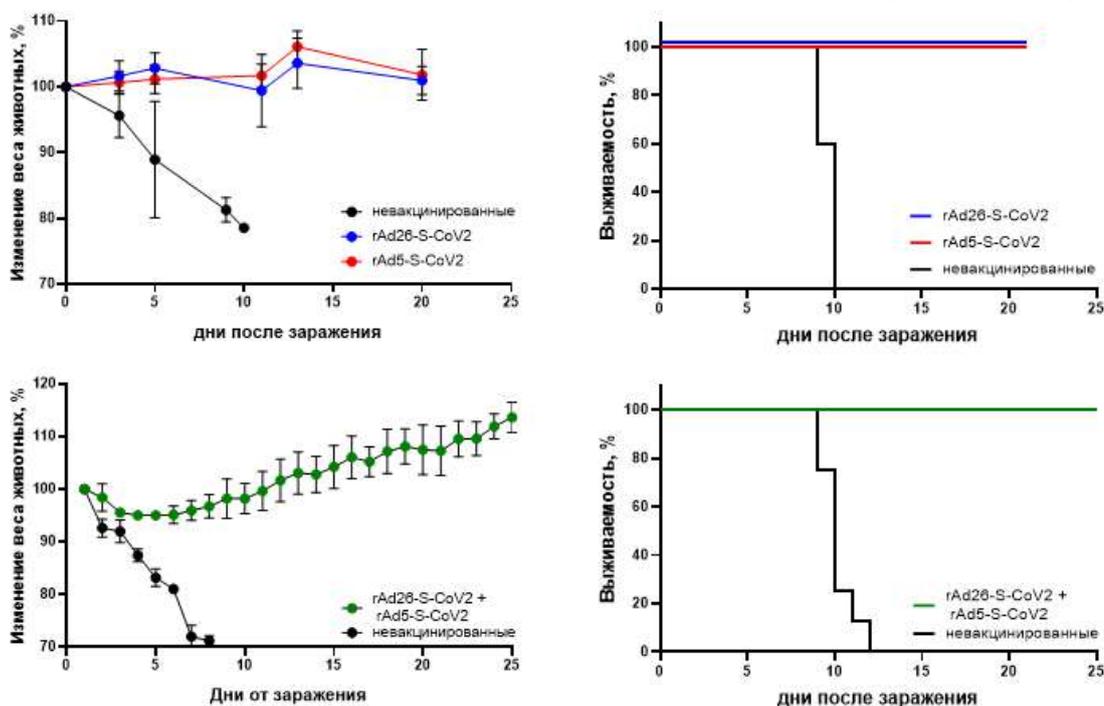


Рисунок 4 – Изменение массы тела и выживаемость вакцинированных и невакцинированных животных после заражения вирусом SARS-CoV-2.

Начиная с 3-го дня после заражения в контрольный (невакцинированной) группе животных детектировали ухудшение общего состояния, которое со временем усиливалось, что привело к 100% гибели. В группах вакцинированных животных после заражения не наблюдали признаков ухудшения состояния, выживаемость составила 100%, что свидетельствует об эффективности вакцинации.

На основании полученных данных и проведенных нами ранее доклинических и клинических исследований вакцины против ближневосточного респираторного синдрома [Зубкова и соавт., 2024; Должикова и соавт., 2020; Ковыршина и соавт., 2020], разработан состав комбинированной векторной вакцины для профилактики COVID-19, названной «Гам-КОВИД-Вак», и определена схема иммунизации. «Гам-КОВИД-Вак» состоит из двух компонентов. Компонент I содержит $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$ частиц rAd26-S-CoV2, компонент II также содержит $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$ частиц rAd26-S-CoV2. Вакцина предназначена для внутримышечного введения. Было предложено вводить компонент I и компонент II с интервалом в 21 день.

2.2 Доклинические исследования вакцины «Гам-КОВИД-Вак»

Далее была проведена доклиническая оценка эффективности и безопасности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» на разных видах животных.

В изучение эффективности входило определение иммуногенности и протективности. Комплексную оценку специфической иммунологической активности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» проводили на двух моделях приматов: игрунковых обезьянах (*Callithrix jacchus*) и макаках-резус (*Macaca mulatta*).

Для исследования гуморального иммунного ответа игрунковым обезьянам (по 12 животных в группе) в/м вводили вакцину «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст: сначала вводили компонент I (rAd26-S-CoV2) в дозе 10^9 в.ч., через 21 день вводили компонент II (rAd5-S-CoV2) в той же дозе. Для исследования гуморального иммунного ответа макакам-резус (11 животных в опытной группе и 6 животных в контрольной) в/м вводили вакцину «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст в дозе 10^{11} в.ч. Для исследования клеточного иммунного ответа обоим видам приматов (по 4 животных в группе) вакцину «Гам-КОВИД-Вак» вводили в/м в режиме прайм-буст в дозе 10^{11} в.ч. В качестве контроля использовали интактных невакцинированных животных.

Показано, что вакцина «Гам-КОВИД-Вак» индуцирует формирование напряженного гуморального и клеточного иммунитета. Ответ на праймирующую иммунизацию компонентом I (rAd26-S-CoV2) характеризуется постепенным повышением уровня специфических IgG антител (рисунок 5А, Г).

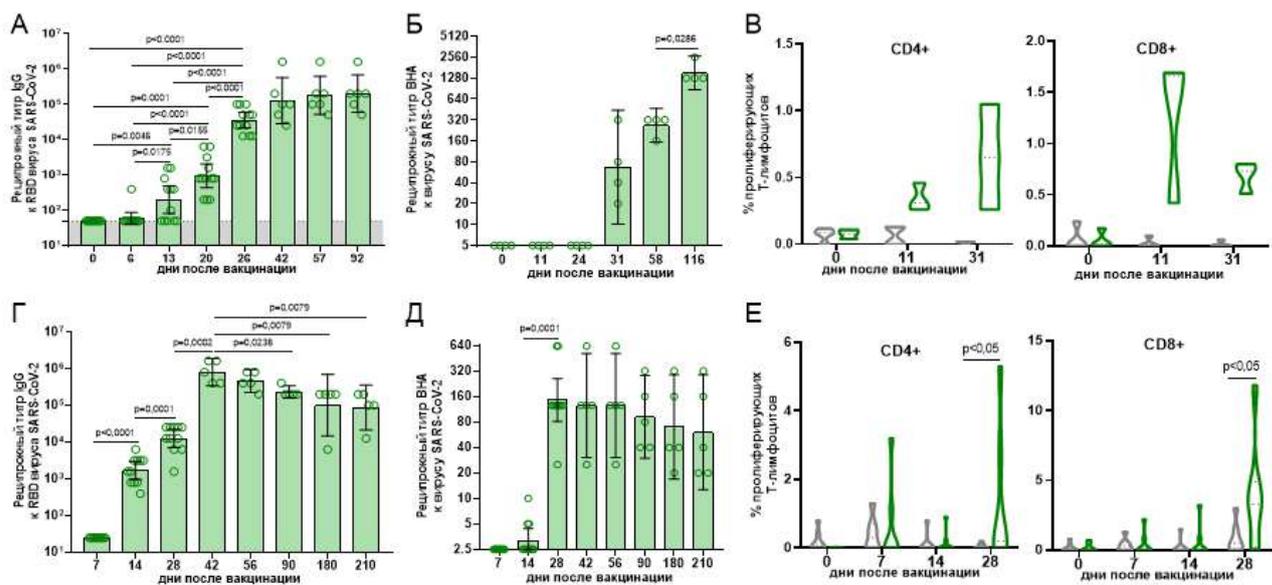


Рисунок 5 – Определение гуморального и клеточного иммунного ответа после иммунизации игрунковых обезьян (А-В) и макак-резус (Г-Е) вакциной «Гам-КОВИД-Вак».

Вторая, бустерирующая иммунизация компонентом II (rAd5-S-CoV2) на 21-й день приводит к значительному увеличению титра IgG антител, в том числе вируснейтрализующих (рисунок 5Б, Д), и способствует к длительному сохранению антител на высоком уровне. Титр антител претерпевает значительный подъем к 42-му дню (более чем в 60 раз) при условии бустерирующей иммунизации. У игрунковых обезьян показано сохранение поствакцинальных антиген-специфических IgG антител в высоких титрах в течение не менее 6 месяцев (СГТ=1:72408), у макак-резус – через 7 месяцев после иммунизации (СГТ=1:89144).

Развитие выраженного клеточного иммунного ответа наблюдается после проведения второй (бустерной) иммунизации на 21-й день (рисунок 5В и Е). В этом случае антиген-специфические CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты получают дополнительный стимул к пролиферации, увеличивая свою долю в организме вакцинированного животного.

Оценку протективной активности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» проводили на двух моделях летальной инфекции: на модели сирийских хомячков с индуцированным иммунодефицитом (рисунок 6А) и на модели трансгенных мышей, несущих ген рецептора ACE2 человека (Tg(K18-ACE2)2PrImn) (рисунок 6Б). Сирийских хомячков заражали вирусом SARS-CoV-2 штамм Ухань и/н в дозе 10⁶ ТЦД50, трансгенных мышей – и/н в дозе 3×10⁴ ТЦД50. Оценку состояния животных после заражения проводили ежедневно в течение 30-40 дней.

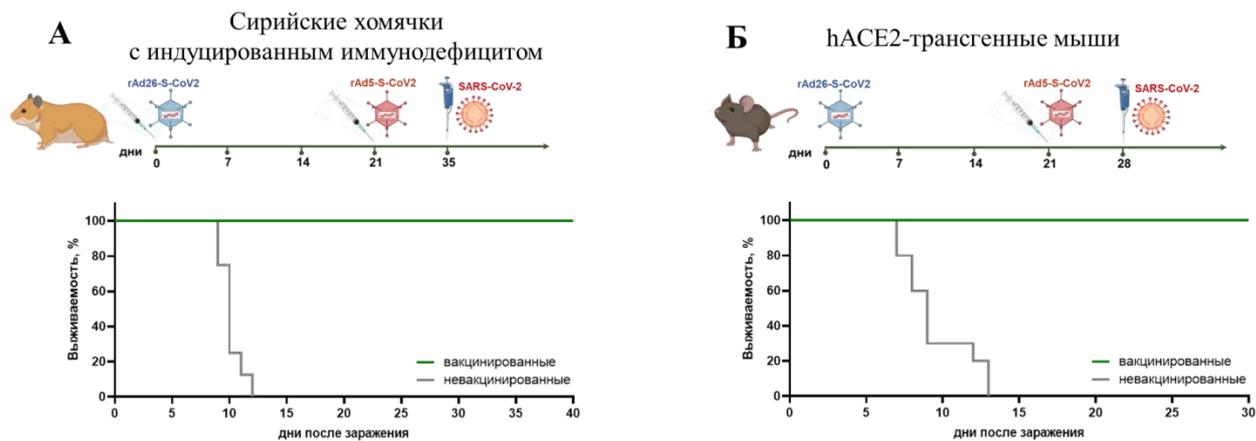


Рисунок 6 – Выживаемость вакцинированных и невакцинированных сирийских хомячков (А) и трансгенных мышей (Б) после заражения вирусом SARS-CoV-2.

Начиная с 7-го дня после заражения, наблюдали гибель невакцинированных животных. К 13-му дню после заражения все животные в этой группе погибли ($n=10$). В группе вакцинированных животных после заражения не наблюдали признаков ухудшения состояния, все животные ($n=10$) выжили. При анализе вирусной нагрузки методом ПЦР в реальном времени было показано, что в легких вакцинированных зараженных животных РНК вируса SARS-CoV-2 не детектировали, в отличие от невакцинированных.

Таким образом, по результатам проведенного исследования на двух моделях летальной инфекции показано, что вакцинация «Гам-КОВИД-Вак» позволяет защитить 100% животных от летальной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 штамм Ухань.

При проверке безопасности препарата показано отсутствие острой и хронической токсичности, не выявлено репродуктивной и эмбриотоксичности, иммунотоксичности, гиперчувствительности немедленного и замедленного типов, местно-раздражающего действия и аллергических реакций. Такой высокий профиль безопасности ожидаем, так как ранее было показано, что аналогичная вакцина для профилактики ближневосточного респираторного синдрома является низко реактогенной [Должикова и соавт., 2020].

Таким образом, проведенный полный комплекс доклинических исследований показал безопасность, иммуногенность и эффективность разработанной вакцины «Гам-КОВИД-Вак», что позволило получить разрешение и приступить к проведению клинических исследований.

2.3 Клинические исследования вакцины «Гам-КОВИД-Вак»

В соответствии с утвержденными протоколами было проведено три самостоятельных клинических исследования вакцины «Гам-КОВИД-Вак».

Первое исследование проходило как открытое исследование безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак» при участии здоровых добровольцев 18-60 лет. Следующие исследования проходили параллельно: открытое исследование безопасности, переносимости и иммуногенности лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак» при участии добровольцев старше 60 лет и рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое многоцентровое клиническое исследование эффективности, иммуногенности и безопасности комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в параллельных группах в профилактике коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

Первое исследование проводилось в два этапа с 17 июня по 19 декабря 2020 г. на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации. В исследовании приняли участие и получили исследуемый препарат 38 здоровых добровольцев: 18 – на 1-м этапе (9 добровольцев получали компонент I и 9 добровольцев – компонент II) и 20 – на 2-м этапе. Все 38 добровольцев завершили участие в исследовании согласно протоколу. Для предотвращения инфицирования добровольцы находились в условиях изоляции 2 недели до введения вакцины и 28 дней после.

Задачей первого этапа была оценка безопасности, переносимости и иммуногенности при введении компонентов I и II вакцины «Гам-КОВИД-Вак» по отдельности. Второй этап начинался только при условии хорошей переносимости компонентов вакцины на первом этапе, то есть при отсутствии критериев остановки исследования. Задачей второго этапа была оценка безопасности, переносимости и иммуногенности вакцины при способе введения, который предполагается в клинической практике (введение компонентов I и II в режиме прайм-буст с интервалом в 21 день). Подобный ступенчатый подход является общепринятым для клинических исследований I фазы, особенно при первом применении исследуемого препарата у человека.

Введение лекарственного препарата осуществлялось сразу в терапевтической дозе, без этапа подбора дозы, так как безопасность и иммуногенность вакцины на основе Ад26 и Ад5 была изучена в предыдущих исследованиях вакцины для профилактики БВРС [Должикова и соавт., 2020; Ковыршина и соавт, 2020]. Регуляторная практика позволила использовать платформенный подход, что значительно сократило время до внедрения вакцины в клиническую практику в условиях пандемии. Согласно протоколу исследования, 18 добровольцев, включенных в первый этап, однократно

получили один из компонентов исследуемой вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в терапевтической дозе 1×10^{11} в.ч. внутримышечно в дельтовидную мышцу плеча. 9 добровольцев получили компонент I и 9 добровольцев получили компонент II. 20 добровольцев, включенных во второй этап, получили вакцину «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст: сначала вводили компонент I, через 21 день – компонент II.

Обобщенные данные по количеству нежелательных явлений (местные и системные реакции) после вакцинации представлены на рисунке 7.

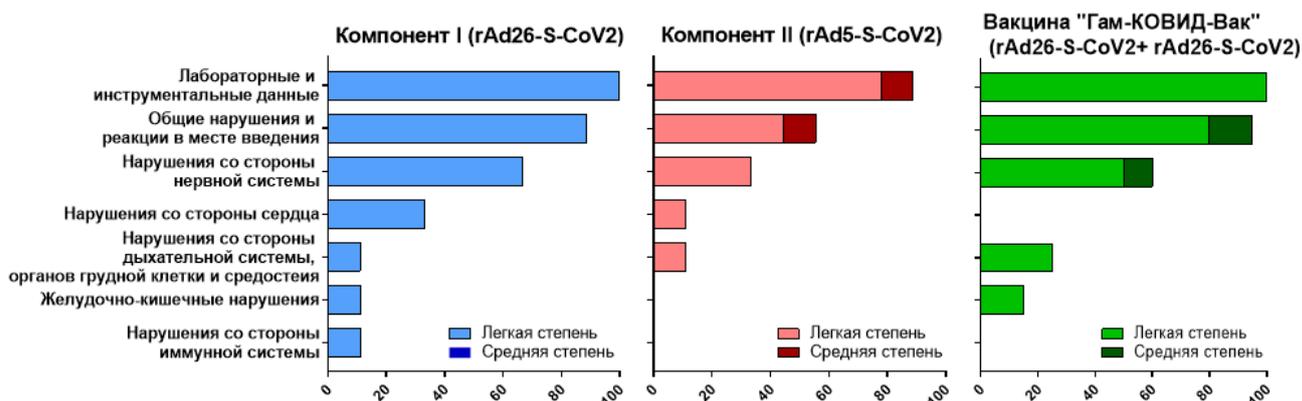


Рисунок 7 – Количество (%) нежелательных явлений (местные и системные реакции) после вакцинации.

В ходе проведения первого этапа исследования было зарегистрировано 121 НЯ у всех без исключения добровольцев. Вместе с тем, НЯ при введении компонента I развивались несколько чаще: выявлено 74 НЯ (61,1%), которые были легкой степени тяжести. В группе добровольцев, получивших компонент II, выявлено 47 НЯ (38,8%), из которых 45 были легкой степени тяжести и 2 – средней степени тяжести (повышение уровня АСТ и гипертермия у разных добровольцев). В ходе проведения второго этапа исследования было зарегистрировано 175 НЯ у всех без исключения добровольцев: 169 НЯ (96,6%) были легкой степени тяжести, 6 НЯ (3,4%) – средней степени тяжести (два случая связаны с астенией, один случай боли характеризовался ломотой в теле, сопровождаемой артралгией, один случай повышения температуры тела до 38,7 °С и два случая головной боли). НЯ тяжелой степени, а также СНЯ в этом исследовании зарегистрировано не было. Ни одно НЯ на этом этапе не привело к выбытию добровольца из исследования или отмене исследуемого препарата. Большинство НЯ завершились выздоровлением без последствий.

Результаты данного клинического исследования показали, что вакцина была безопасной и хорошо переносилась добровольцами, не вызывая серьезных побочных эффектов или тяжелой реактогенности. Вакцинальные реакции были

слабой и средней степени выраженности. Следует отметить преобладание местных реакций в структуре всех выявленных НЯ после введения вакцины «Гам-КОВИД-Вак», которые были представлены болью, зудом в месте введения препарата и гипертермией. Подобный профиль поствакцинальных реакций характерен для вакцин, основанных на рекомбинантных вирусных векторах [Zhu et al., 2020a; Zhu et al., 2020b; Sadoff et al., 2021; Sadoff et al., 2022; Tsuchiya et al., 2023].

При оценке иммунологической эффективности использовали методологический подход на основе сравнения показателей напряженности иммунитета со значениями показателей до введения исследуемого препарата. Иммунизация компонентом I или II, а также вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст способна вызвать формирование напряженного антиген-специфического гуморального и клеточного противоинфекционного иммунного ответа, что подтверждается высокой степенью статистической достоверности в измеряемых параметрах до и после иммунизации (рисунок 8).

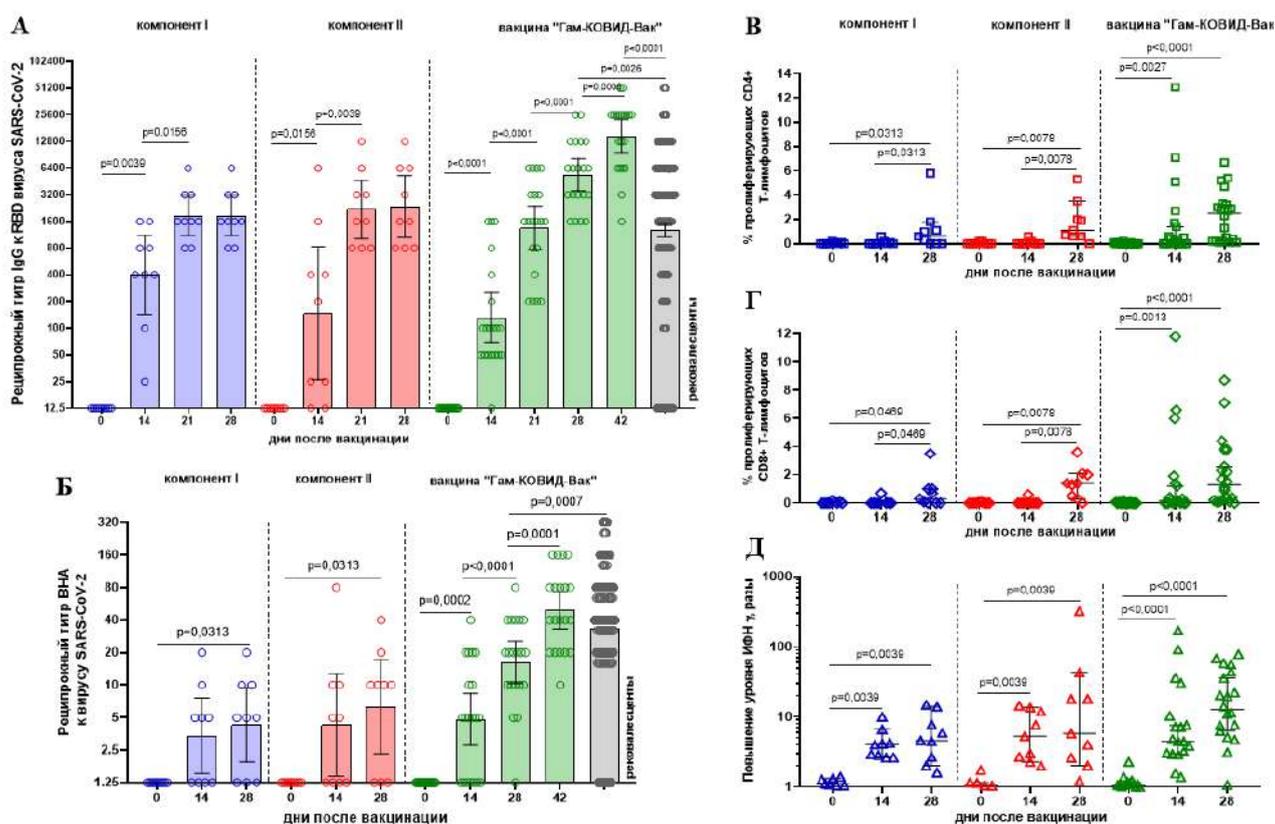


Рисунок 8 – Динамика развития поствакцинального гуморального (А, Б) и клеточного (В-Г) иммунного ответа у добровольцев после введения компонента I, компонента II или вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст.

Иммунизация в режиме прайм-буст вакциной «Гам-КОВИД-Вак» приводит к достоверно более высоким значениям титров IgG антител (1:5382) по сравнению с иммунизацией компонентом I (1:1866) или II (1:2352) на 28-й день исследования, тем самым демонстрируя преимущества бустерной схемы вакцинации и позволяя рекомендовать ее для дальнейшей клинической практики (рисунок 8А). При сравнении титров IgG антител у вакцинированных добровольцев на 28-й день от начала вакцинации с титрами у реконвалесцентов после COVID-19 (у которых заболевание протекало в легкой и средней форме, через месяц после полного выздоровления) показано превышение титров более чем в 4 раза. Вируснейтрализующие антитела детектируются у 100% добровольцев (рисунок 8Б). Индуцированные клеточные иммунные ответы были высокого качества, поскольку почти у 90% добровольцев детектировали продукцию маркерного цитокина ИФН γ на 28-й день исследования, и отмечалось значительное увеличение вирус-специфических CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-лимфоцитов (более чем у 78% добровольцев) (рисунок 8В-Д).

Важно подчеркнуть, что иммунизация в режиме прайм-буст приводит к достоверно более выраженному как В- так и Т-клеточному иммунному ответу по сравнению с иммунизацией только одним компонентом, что позволяет сделать вывод о преимуществах бустерной схемы вакцинации.

Одним из факторов, который может оказывать негативное влияние на иммунологическую эффективность рекомбинантных аденовирусных векторов, является предсуществующий иммунитет к используемому вектору, Ад5 или Ад26. Сыворотки крови добровольцев, полученные до начала иммунизации (0 день) и через 28 дней после нее, тестировали на наличие ВНА к Ад26 и Ад5 (рисунок 9).

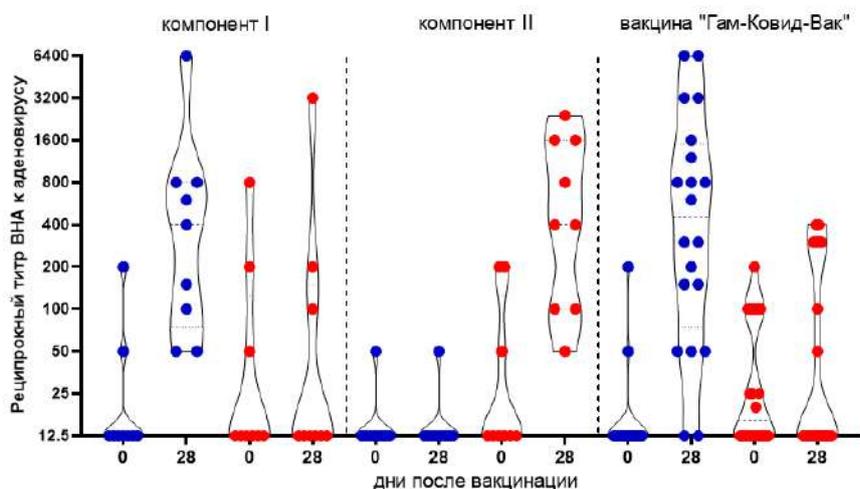


Рисунок 9 – Титры ВНА к Ад26 и Ад5 у добровольцев на 0-й и 28-й дни исследования.

Далее проводили исследование корреляции между титром IgG-специфических антител к вирусу SARS-CoV-2 и ВНА к Ад26 и Ад5 (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты корреляционного анализа между титром ВНА к Ад до иммунизации и титром RBD-специфических IgG в сыворотке крови добровольцев на 14, 21 и 28 дни после иммунизации

	RBD-специфические IgG					
	14 день		21 день		28 день	
	г	р	г	р	г	р
Компонент I						
ВНА к Ад26	-0,44	0,29	-0,1	0,92	-0,1	0,92
ВНА к Ад5	-0,41	0,29	-0,49	0,21	-0,49	0,21
Компонент II						
ВНА к Ад26	0,02	>0,99	0,31	0,47	0,35	0,36
ВНА к Ад5	-0,39	0,31	-0,51	0,19	-0,43	0,25
Вакцина «Гам-Ковид-Вак»						
ВНА к Ад26	0,07	0,77	0,36	0,11	0,23	0,33
ВНА к Ад5	-0,2	0,39	-0,01	0,96	-0,11	0,65

Проведенный нами корреляционный анализ – сравнение титра ВНА к Ад26 и Ад5 с показателями напряженности гуморального иммунного ответа – показал, что наличие предсуществующего иммунного ответа к векторам не оказывает влияния на напряженность иммунного ответа. Полученные результаты согласуются с данными других клинических исследований вакцин на основе аденовирусов человека 5 и 26 серотипов. По результатам I фазы клинических исследований вакцины Ad5-nCoV компании CanSino показано, что, несмотря на наличие высокого предсуществующего иммунитета к Ад5, иммунные ответы к вирусу SARS-CoV-2 на 28-й день исследования наблюдали у 60%, 84% и 100% добровольцев, получивших дозу 5×10^{10} , 1×10^{11} и $1,5 \times 10^{11}$ в.ч., соответственно [Zhu et al., 2020]. Уровни нейтрализующих антител к Ад26 не коррелировали с уровнями нейтрализующих антител к SARS-CoV-2 ни на 29-й, ни на 71-й день [Sadoff et al., 2021; Le Gars et al., 2022]. Анализ III фазы клинического исследования вакцины Ad26.COV2.S (NCT04505722) показал отсутствие влияния иммунитета к Ад26 на развитие иммунных реакций, вызванных вакцинацией. Среди вакцинированных в Бразилии и Южной Африке 31% и 66% соответственно имели нейтрализующие антитела к Ад26, при этом у них были одинаковые уровни поствакцинальных S-специфических антител [Le Gars et al., 2022].

По результатам проведенного клинического исследования комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» была зарегистрирована (РУ №: ЛП-006395) и разрешена к применению 11 августа

2020 года, став первой в мире зарегистрированной вакциной для профилактики COVID-19. Полученные нами результаты эффективности использования вакцинации в режиме прайм-буст были применены и другими разработчиками вакцин, а в 2021 году ВОЗ рекомендовала для эффективной профилактики COVID-19 применение бустерных доз.

Для расширения показаний вакцины «Гам-КОВИД-Вак» с целью использования у пациентов старше 60 лет было проведено клиническое исследование с участием старшей возрастной группы. Исследование проводили с 22 октября 2020 г. по 24 мая 2021 г. на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента РФ на 110 здоровых добровольцах в возрасте старше 60 лет включительно.

В исследование безопасности были включены 109 добровольцев. Значимые заболевания в анамнезе присутствовали почти у 106 (97,2%) добровольцев, что ожидаемо для данной возрастной категории людей. Прием какой-либо лекарственной терапии за 30 дней до скрининга был у 74 (67,9%) добровольцев. Прием предшествующей (за 30 дней до скрининга) и сопутствующей (в ходе исследования) терапии был у 91 (83,5%) добровольца. Обобщенные данные по количеству нежелательных явлений (местные и системные реакции) после вакцинации представлены на рисунке 10А.

В ходе исследования, включавшего 180-дневный период наблюдения, было зарегистрировано в общей сложности 55 НЯ у 29 (26,61%) добровольцев. Количество СНЯ составило 2 у 2 (1,83%) добровольцев, к которым относились фибрилляция предсердий и коронавирусная инфекция COVID-19. Оба случая СНЯ были средней степени тяжести, не были связаны с исследуемым препаратом, разрешились выздоровлением и не требовали досрочного прекращения участия или выведения добровольца из исследования. Стоит отметить, что НЯ у добровольцев старше 60 лет регистрировались в два раза реже, чем у добровольцев в возрасте 18-60 лет. В целом, вакцина была безопасной и хорошо переносилась добровольцами, не вызывая серьезных побочных эффектов или выраженной реактогенности.

По результатам оценки иммунологической эффективности показано, что иммунизация в режиме прайм-буст вакциной «Гам-КОВИД-Вак» приводит к формированию специфических IgG антител с титром 1:3115,82 на 42-й день после иммунизации (рисунок 10Б). Антиген-специфичные IgG антитела детектируются у 100% добровольцев. ВНА детектируются у 94,3% добровольцев (рисунок 10В). Иммунизация в режиме прайм-буст вакциной «Гам-КОВИД-Вак» способна вызвать формирование напряженного антиген-

специфического клеточного звена противоинфекционного иммунитета у добровольцев возрастной группы старше 60 лет (на основании данных лимфопролиферативного ответа, а также секреции ИФН γ) (рисунок 10Г, Д), что подтверждается высокой степенью статистической достоверности в измеряемых параметрах до и после иммунизации.

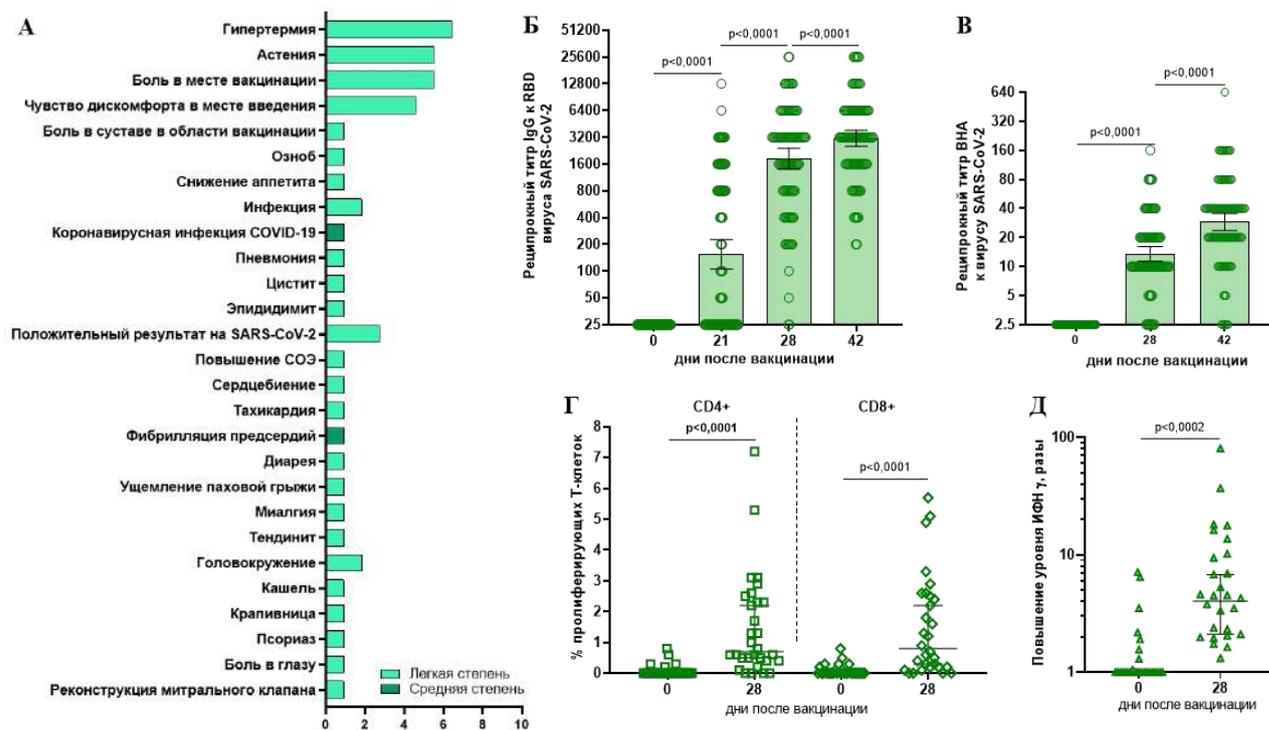


Рисунок 10 – Количество (%) НЯ (А) и динамика развития поствакцинального гуморального (Б, В) и клеточного (Г, Д) иммунного ответа у добровольцев старше 60 лет после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст.

Дальнейшее изучение вакцины проходило в рамках пострегистрационного клинического исследования как рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое многоцентровое клиническое исследование эффективности, иммуногенности и безопасности комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в параллельных группах в профилактике коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

Исследование проводилось с 7 сентября 2020 г. по 16 ноября 2021 г. на базе 25 исследовательских центров г. Москвы на взрослых добровольцах обоих полов в возрасте от 18 до 92 лет с целью оценки эффективности, иммуногенности и безопасности применения вакцины «Гам-КОВИД-Вак». В исследовании было скринировано 66 565 субъектов, 33 864 из которых (50,9 %)

соответствовали всем критериям включения/исключения и успешно завершили все скрининговые процедуры, были распределены в две группы в соотношении 3:1 – в группу исследования (вакцина) (с применением вакцины «Гам-КОВИД-Вак») и в группу контроля (плацебо) (с применением плацебо). Особенностью данного исследования была рандомизация субъектов в пять возрастных страт: 18-30 лет, 31-40 лет, 41-50 лет, 51-60 лет и старше 60. Средний возраст составил $43,9 \pm 12,1$ лет в группе вакцина и $43,9 \pm 12,0$ лет – в группе плацебо. Длительность участия в исследовании для одного субъекта составила 180 ± 14 дней после введения первой дозы вакцины или плацебо.

Для оценки реактогенности вакцины изучали развитие и выраженность всех НЯ в течение 7 дней после каждого введения компонентов вакцины «Гам-КОВИД-Вак» (рисунок 11).

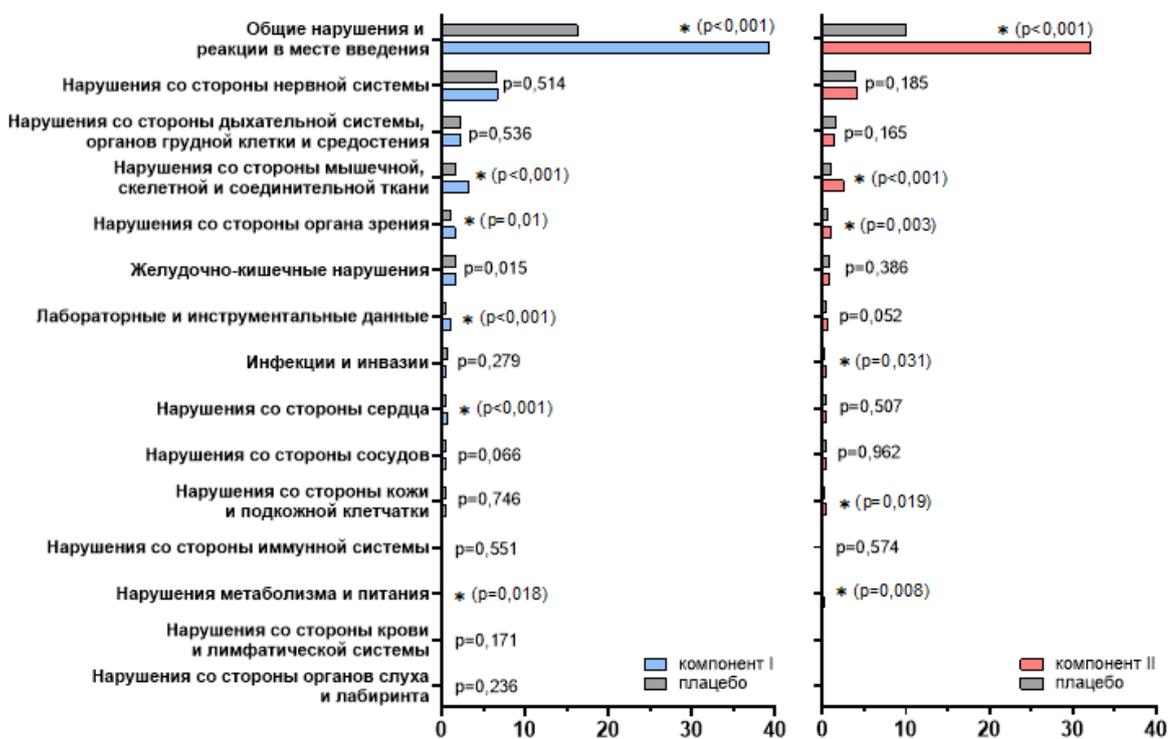


Рисунок 11 – Количество (%) НЯ (местные и системные реакции), выявленных в течение 7-ми дней после введения компонента I и компонента II.

Вакцина обладала низкой реактогенностью, поскольку через 7 дней после введения каждого компонента местные и общие поствакцинальные реакции наблюдали у 39,6% добровольцев. В группе плацебо аналогичные реакции регистрировались у 16,3%. Следует отметить, что на введение первого компонента вакцины «Гам-КОВИД-Вак» прослеживается тенденция к большему выявлению общего нарушения в виде гриппоподобного синдрома (21,3%) по сравнению со вторым компонентом вакцины (15,1%). При этом у

добровольцев группы плацебо достоверно чаще ($p < 0,001$) регистрировалась вирусная пневмония (0,8%) по сравнению с добровольцами, получившими вакцину (0,2%).

Результаты регистрации НЯ в течение 6 месяцев после вакцинации были легкой степени тяжести и наблюдались незначительно чаще в вакциновой группе (51,9%) по сравнению с контрольной (42,7%) (рисунок 12).

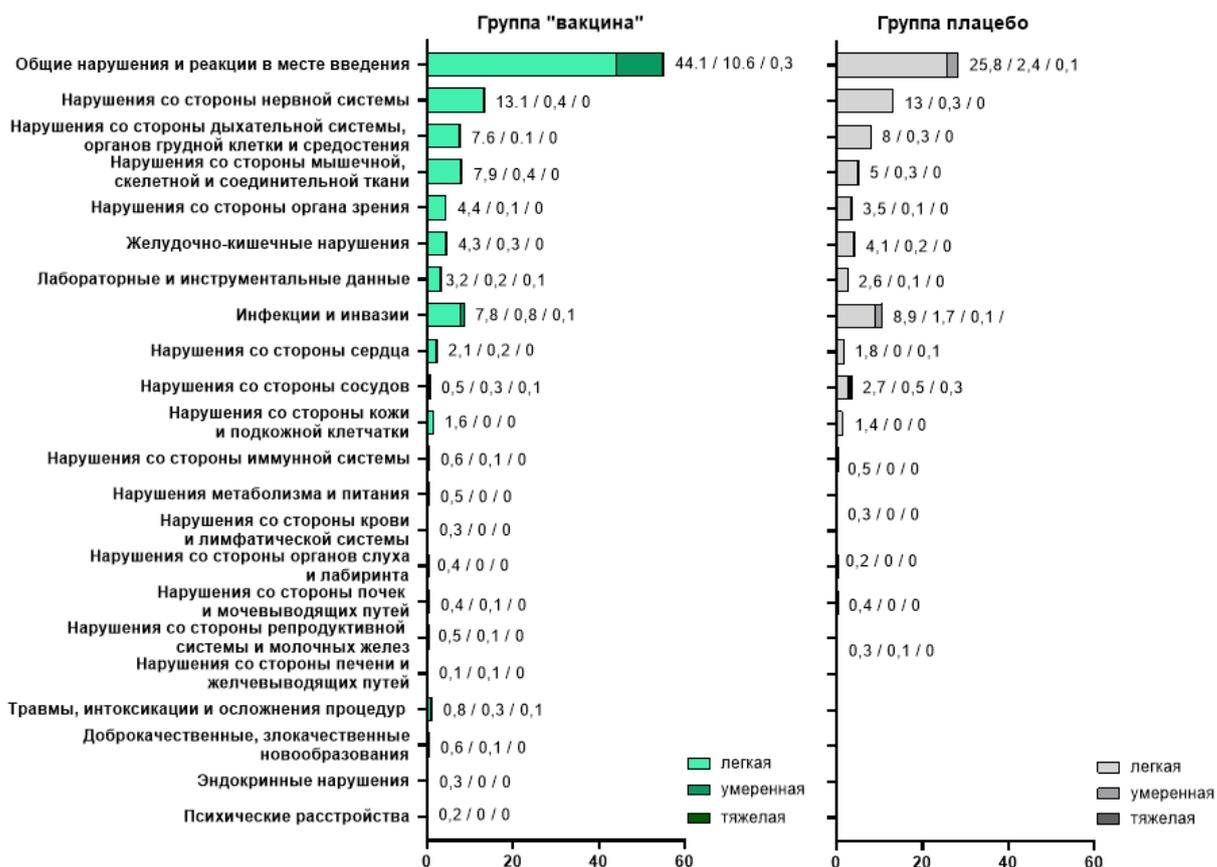


Рисунок 12 – Количество (%) НЯ (местные и системные реакции) по степени тяжести. Значения обозначают количество случаев и степень тяжести: легкая / умеренная / тяжелая.

НЯ умеренной степени выявляли чаще в группе, привитых вакциной (13,1%) по сравнению с группой, получивших плацебо (5,9%). Несколько тяжелых нежелательных явлений наблюдались одинаково часто в вакциновой (1,5%) и контрольной (1,9%) группах. При этом стоит отметить, что статистически достоверно чаще ($p < 0,001$) СНЯ (подозрение на коронавирусную инфекцию COVID-19 и вирусная пневмония) регистрировались в группе плацебо.

Анализ клинических проявлений местного характера показал, что у 35,3% привитых реакции в месте введения вакцины отмечались непосредственно после инъекции. Оценка общего вакцинального процесса свидетельствует, что

92,9% добровольцев переносили вакцинацию без температуры. Полученные результаты позволяют утверждать, что вакцина «Гам-КОВИД-Вак» для профилактики COVID-19 имеет благоприятный профиль безопасности и не противоречит данным других исследователей, которые изучали безопасность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в ходе массовой вакцинации населения против COVID-19. По данным Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины, получены сведения о благоприятном профиле переносимости и безопасности [Драпкина и соавт., 2021; Свиридова и соавт., 2021; Мамровская и соавт., 2021; Драпкина и соавт., 2022; Сутовская и соавт., 2022].

По результатам оценки поствакцинального гуморального иммунного ответа установлен достаточно высокий уровень IgG к вирусу SARS-CoV-2 через 42 дня после иммунизации в режиме прайм-буст вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (рисунок 13).

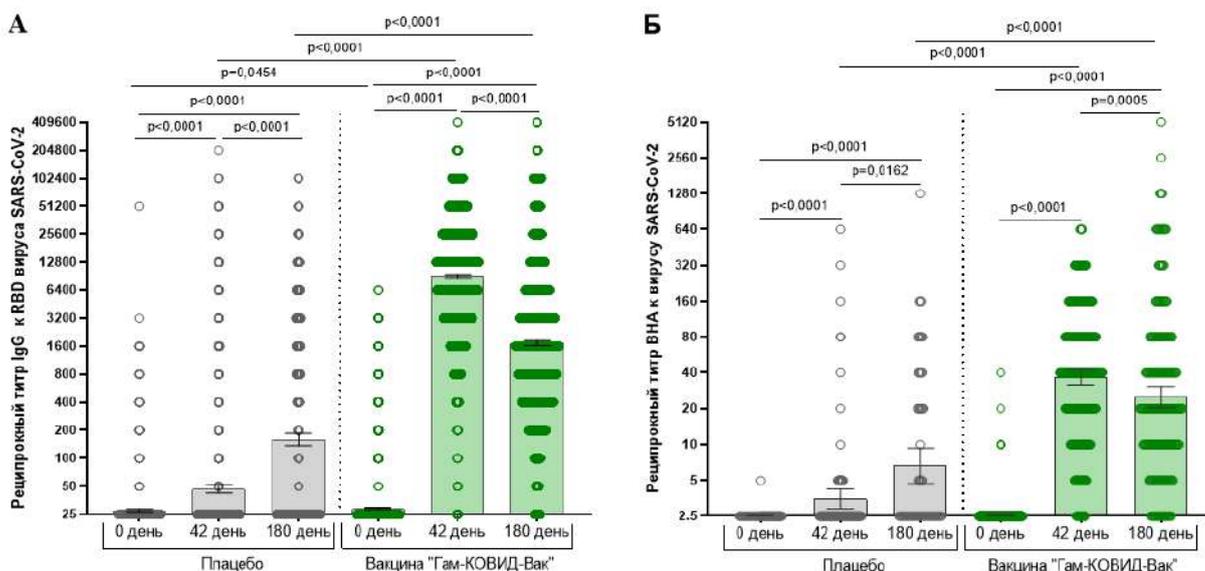


Рисунок 13 – Динамика развития поствакцинального гуморального иммунного ответа у добровольцев после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст.

Через 42 дня после иммунизации СГТ IgG составил 1:9070, уровень сероконверсии – 99,41% (рисунок 13А). ВНА к вирусу SARS-CoV-2 были определены у 87,37% добровольцев, СГТ=1:36,65 (рисунок 13Б). В группе плацебо специфичные IgG определялись у 11,04% добровольцев, СГТ был минимальным и равен 1:46,74. Отмечено естественное снижение защитных титров антител в динамике. Через 6 месяцев после вакцинации СГТ=1:1729, при этом уровень сероконверсии составил 94,92%. К 180-му дню также наблюдается статистически достоверное снижение титра ВНА (СГТ=24,99), что

свидетельствует о необходимости проведения ревакцинации через 6 месяцев. К аналогичному выводу приходят и другие исследователи [Кириллов и соавт., 2022; Андреев и соавт., 2022]. У подавляющего большинства вакцинированных лиц молодого, среднего и пожилого возраста сформировался выраженный гуморальный иммунный ответ. Высокие уровни антител, в том числе вируснейтрализующих, наблюдались у добровольцев более молодого возраста (до 40 лет) вне зависимости от пола. В ходе проведенного исследования не обнаружено существенных различий в иммунном ответе в зависимости от пола и возраста, данные результаты сопоставимы с результатами, полученными в других исследованиях [Жолондзь и соавт., 2022; Андреев и соавт., 2022; Чистякова и соавт., 2022].

При оценке поствакцинального Т-клеточного иммунного ответа были получены следующие результаты: у 94,7% и 78,95% добровольцев обнаружены антиген-специфичные CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты, соответственно (рисунок 14А, Б).

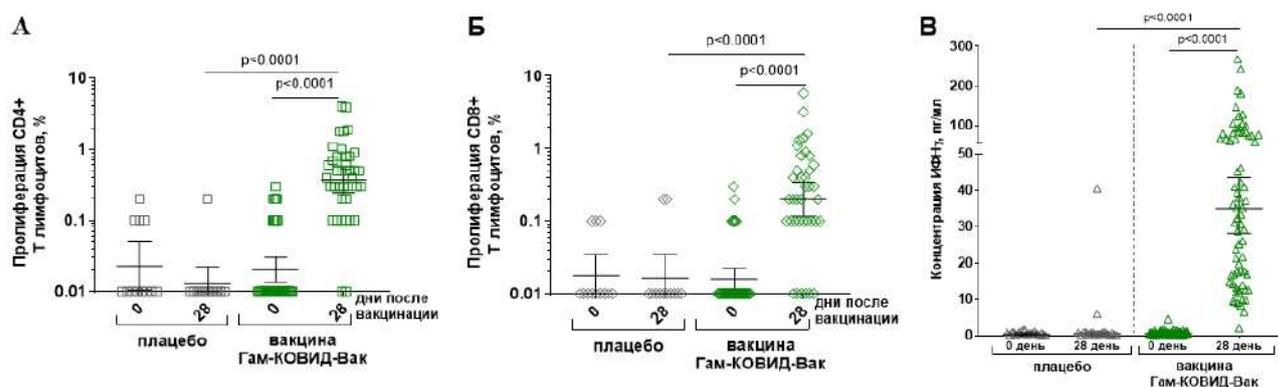


Рисунок 14 – Динамика развития поствакцинального клеточного иммунного ответа у добровольцев после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в режиме прайм-буст.

На 28-й день исследования (через 7 дней после введения второго компонента вакцины) у всех участников из группы вакцинированных наблюдали значительно более высокие уровни экспрессии ИФН γ при повторной стимуляции антигеном (медиана 36,14 пг/мл (95% ДИ: 16,88-74,69)) по сравнению с исходным значением (до вакцинации) (рисунок 13В). У добровольцев из группы плацебо не был выявлен специфический Т-клеточный иммунный ответ.

Полученные нами результаты не противоречат данным других исследователей, которые изучали особенности формирования клеточного иммунитета [Платонова и соавт., 2022; Потеряев и соавт., 2021; Ключева и соавт., 2024]. В исследованиях Платоновой Т.А. у 95,8% участников

исследования детектирован Т-клеточный иммунитет после вакцинации, в том числе у лиц без серопротекции по IgG [Платонова и соавт., 2021]. Платонова Т.А. также сравнила Т-клеточный иммунитет у переболевших и вакцинированных и получила следующие результаты: Т-клеточный иммунитет был выявлен у 95,6% вакцинированных и у 100% переболевших. У переболевших более выраженный ответ был на М- и N-белки по сравнению с S-белком. У вакцинированных Т-клеточный ответ формировался только на стимуляцию S-белком, что соответствует составу используемой вакцины [Платонова и соавт., 2022].

Различие в заболеваемости вакцинированных и невакцинированных добровольцев является критерием эффективности вакцины и основой для определения ее защитного эффекта, который принято выражать в процентах.

В исследовании, кроме расчета конечной эффективности, планировалось проведение трех промежуточных анализов (20, 39 и 78 случаев) с целью предварительной оценки параметров эффективности. В течение исследования выполнены промежуточные анализы на 20 и 78 случаях, соответствующих критериям оценки эффективности (первичная конечная точка). Анализ 39 случаев не проводился, так как накопление случаев происходило слишком быстро.

Расчет эффективности был проведен в соответствии с протоколом исследования. Эффективность определяли на основании отношения шансов.

В первый промежуточный анализ (20 случаев) включено 12296 добровольцев и 27 случаев, верифицированных на момент закрытия базы данных (18 ноября 2020 года). В группу «вакцина» вошли 9258 субъектов, в группу плацебо – 3038. Согласно проведенному анализу, в группе «вакцина» COVID-19 был подтвержден у 3 добровольцев (0,03%), тогда как в группе плацебо отмечалось 24 случая (0,79%) заболевания (таблица 2).

Таблица 2 – Данные по доле заболевших субъектов (первый промежуточный анализ)

Группа	Доля заболевших		P (χ^2)
	Заболело	Не заболело	
группа «вакцина»	3/9258 (0,03%)	9255/9258 (99,97%)	<0,0001
группа плацебо	24/3038 (0,79%)	3014/3038 (99,21%)	
OR (95% ДИ)	0,041 (0,012; 0,135)		

Отношение шансов равно 0,041 (95% ДИ: 0,012–0,135). Эпидемиологическая эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» составляет 95,9% (95% ДИ: 98,8%–86,5%).

Поскольку в ноябре в Москве наблюдался рост заболеваемости COVID-19, вторая блокировка базы данных была выполнена 24 ноября 2020 года, когда было зарегистрировано 78 случаев. Второй промежуточный анализ эффективности включил 14964 добровольца, получивших вакцину «Гам-КОВИД-Вак», и 5435 добровольцев, получивших плацебо по полной схеме иммунизации. Согласно проведенному анализу, 16 случаев COVID-19 было подтверждено в группе «вакцина» (0,1%), тогда как в группе плацебо отмечалось 62 случая (1,3%) (таблица 3).

Таблица 3 – Данные по доле заболевших субъектов (второй промежуточный анализ)

Группа	Доля заболевших		P (χ^2)
	Заболело	Не заболело	
группа «вакцина»	16/14964 (0,1%)	14948/14964 (99,9%)	<0,0001
группа плацебо	62/4902 (1,3%)	4840/4902 (98,7%)	
OR (95% ДИ)	0,084 (0,048; 0,144)		

Отношение шансов равно 0,084 (95% ДИ: 0,048–0,144). Эпидемиологическая эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» составляет 91,6% (95% ДИ: 85,6%–95,2%).

За все время исследования среди добровольцев, которые получили вакцину «Гам-КОВИД-Вак» или плацебо по полной схеме иммунизации (PP-популяция), было выявлено 933 подтвержденных случая COVID-19, диагностированных начиная с 22-го дня после введения первого компонента вакцины. Основным критерием эффективности в данном анализе является доля добровольцев, заболевших COVID-19, развившимся в течение 6 месяцев после получения вакцины «Гам-КОВИД-Вак» или второй дозы плацебо и подтвержденный методом ПЦР после планового завершения вакцинации.

Согласно проведенному анализу, в группе «вакцина» доля заболевших составила 455 из 21939 добровольцев (2,07%), тогда как в группе плацебо отмечалось 478 из 7130 (6,70%) (таблица 4).

Таблица 4 – Данные по доле заболевших субъектов

Группа	PP-популяция		P (χ^2)
	Доля заболевших		
	Заболело	Не заболело	
группа «вакцина»	455/21939 (2,07%)	21484/21939 (97,93%)	<0,0001
группа плацебо	478/7130 (6,70%)	6652/7130 (93,30%)	
OR (95% ДИ)	0,295 (0,258; 0,336)		

Отношение шансов равно 0,295 (95% ДИ: 0,258–0,336). Эпидемиологическая эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» составляет 70,5% (95% ДИ: 66,4%–74,2%).

При сравнении эффективности вакцины между разными возрастными стратами статистически значимой разницы не обнаружено. Эффективность вакцинации против COVID-19 с учётом возрастного фактора составила: 66% для лиц 18-30 лет, 71% для 31-40 лет, 66,7% для 41-50 лет, 73,8% для 51-60 лет и 73,6% для лиц старше 60 лет (таблица 5).

Таблица 5 – Данные по эффективности вакцины в различных стратах по возрасту и полу

Возраст, лет	Пол	Группа вакцина	Группа плацебо	P	OR (95% ДИ)	Эффективность (%)
18-30	Оба пола	37/2709 (1,37%)	35/895 (3,91%)	<0,001	0,340 (0,213; 0,544)	66
31-40		96/5865 (1,64%)	102/1882 (5,42%)	<0,001	0,290 (0,218; 0,386)	71
41-50		144/6325 (2,28%)	134/2049 (6,54%)	<0,001	0,333 (0,262; 0,424)	66,7
51-60		127/4946 (2,57%)	148/1621 (9,13%)	<0,001	0,262 (0,205; 0,335)	73,8
Старше 60		51/2091 (2,44%)	59/683 (8,64%)	<0,001	0,264 (0,180; 0,389)	73,6
18-30	Мужчины	22/1969 (1,12%)	24/658 (3,65%)	<0,001	0,298 (0,166; 0,536)	70,2
31-40		63/4066 (1,55%)	72/1311 (5,49%)	<0,001	0,271 (0,192; 0,382)	72,9
41-50		75/3945 (1,90%)	89/1310 (6,79%)	<0,001	0,266 (0,194; 0,364)	73,4
51-60		81/3030 (2,67%)	87/1015 (8,57%)	<0,001	0,293 (0,215; 0,400)	70,7
Старше 60		32/1227 (2,61%)	38/404 (9,41%)	<0,001	0,258 (0,159; 0,419)	74,2
18-30	Женщины	15/740 (2,03%)	11/237 (4,64%)	0,034	0,425 (0,192; 0,939)	57,5
31-40		33/1799 (1,83%)	30/571 (5,25%)	<0,001	0,460 (0,313; 0,677)	54
41-50		69/2380 (2,90%)	45/739 (6,09%)	<0,001	0,266 (0,194; 0,364)	73,4
51-60		46/1916 (2,40%)	61/606 (10,07%)	<0,001	0,220 (0,148; 0,326)	78
Старше 60		19/864 (2,20%)	21/279 (7,53%)	<0,001	0,276 (0,146; 0,522)	72,4

COVID-19 статистически значимо чаще регистрировался среди женщин молодого возраста 18-40 лет, чем среди мужчин того же возраста. Эффективность вакцины для женщин 18-30 лет и 31-40 лет составила 57,2% и 54%, соответственно. Эффективность вакцины для мужчин 18-30 лет составила 70,2%, для 31-40 – 72,9%. При этом сравнительно одинаковая эффективность наблюдалась между женщинами и мужчинами в других возрастных стратах.

Данные по эффективности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в зависимости от степени тяжести течения COVID-19 представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Данные по эффективности вакцины в зависимости от степени тяжести

Степень тяжести	Группа «вакцина»	Группа плацебо	P	OR (95% ДИ)	Эффективность (%)
легкая	397/21939 (1,81%)	308/7130 (4,32%)	<0,001	0,408 (0,351; 0,475)	59,2
средняя	46/21939 (0,21%)	145/7130 (2,03%)	<0,001	0,101 (0,073; 0,141)	89,9
тяжелая	10/21939 (0,05%)	23/7130 (0,32%)	<0,001	0,141 (0,067; 0,296)	85,9
крайне тяжелая	2/21939 (0,01%)	2/7130 (0,03%)	0,261	0,325 (0,046; 2,307)	67,5

Расчетная эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в предотвращении легкого заболевания составила 59,2%. С наибольшей эффективностью вакцина защищала от средней и тяжелой форм заболевания: 89,9% и 85,9%, соответственно. Оценить эффективность защиты от крайне тяжелого течения заболевания в рамках клинического исследования не представлялось возможным из-за малого числа событий (по 2 случая в каждой группе).

Сходные результаты были получены в других исследованиях. В проспективном когортном исследовании, проводившемся на базе перепрофилированной клиники им. Е.М. Тареева с 26.10.2021 по 31.12.2021 гг., показано, что летальность вакцинированных пациентов была достоверно ниже, чем среди госпитализированных больных, не прошедших вакцинацию (6,9% и 17,3% соответственно). Вакцинация «Гам-КОВИД-Вак» снижает риск смерти от любых причин во время пребывания в стационаре примерно на 60% [Надточеева и соавт., 2022]. В исследовании эффективности вакцинации работников ОАО «РЖД» эффективность вакцинации «Гам-КОВИД-Вак» против заболевания COVID-19 составила 97,8%, против госпитализации с COVID-19 – 97,5%, против летальности от COVID-19 оказалась на уровне 95,2% [Костенко и соавт., 2022]. По результатам ретроспективных

исследований в Республике Беларусь эпидемиологическая эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» составила 96,3% [Ala et al., 2021].

Интересные результаты получены в исследовании сравнительной эффективности векторных и мРНК вакцин, проведенном в Венгрии. Согласно этим данным, защитная эффективность вакцины «Гам-КОВИД-Вак» в предотвращении симптоматической инфекции составила 86%, а способность предотвращать смерти, связанные с COVID-19 – 97%, и эти показатели превосходят аналогичные для других вакцин [Vokó et al., 2022]. На основании анализа данных клинических исследований, проведенных в Бахрейне, эффективность вакцины в предотвращении смертей превышает 90% [AlQahtani et al., 2021]. В Иране скорректированная эффективность оценивается в 95% [Heidarzadeh et al., 2023]. Согласно исследованию, проведенному в Аргентине, эффективность против летального исхода COVID-19 составила 93,3%. Эпидемиологическая эффективность «Гам-КОВИД-Вак» в когорте ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих противовирусную терапию, составила 76,33% [Gushchin et al., 2022].

По результатам проведенных пострегистрационных клинических исследований вакцина «Гам-КОВИД-Вак» получила постоянную регистрацию 11 января 2022 года и включена в Национальный календарь профилактических прививок РФ по эпидемическим показаниям (приказ Министерства здравоохранения РФ от 20 декабря 2021 г. № 1122н). Вакцина «Гам-КОВИД-Вак» зарегистрирована в 74 странах мира. В РФ в гражданский оборот выпущено свыше 126 миллионов доз компонента I и свыше 105 миллионов доз компонента II.

ВЫВОДЫ

1. Впервые сконструированы рекомбинантные репликативно-дефектные векторы на основе аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующие гликопротеин S коронавируса SARS-CoV-2. Определена оптимальная схема иммунизации в режиме прайм (rAd26-S-CoV2) – буст (rAd5-S-CoV2) с интервалом в 21 день, обеспечивающая 100% защиту животных (хомяки, трансгенные мыши) в условиях экспериментального заражения.

2. В доклинических исследованиях безопасности кандидатной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» показано отсутствие токсичности при однократном и повторном введении, аллергизирующего и иммунотоксического действия, репродуктивной токсичности, эмбриотоксических и тератогенных свойств.

3. Клинические исследования I-II фазы у добровольцев 18-60 лет продемонстрировали безопасность, низкую реактогенность и иммунологическую эффективность вакцины. При иммунизации в режиме прайм-буст детектировано образование антиген-специфичных IgG антител и вируснейтрализующих антител у 100% добровольцев, антиген-специфичных клеток обеих популяций CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов у 85% и ИФН γ у 90% добровольцев (повышение по крайней мере одного из трех показателей CD4+/CD8+/ИФН γ клеточного иммунитета было обнаружено у 100% добровольцев).

4. Вакцинация добровольцев в возрастной группе старше 60 лет вакциной «Гам-КОВИД-Вак» безопасна и способна приводить к образованию антиген-специфичных IgG антител у 100% добровольцев, вируснейтрализующих антител у 93,33% добровольцев, антиген-специфичных CD4+ Т-лимфоцитов у 83,33% добровольцев, CD8+ Т-лимфоцитов у 80% и ИФН γ у 76,67% добровольцев (повышение по крайней мере одного из трех показателей CD4+/CD8+/ИФН γ клеточного иммунитета было обнаружено у 100% добровольцев).

5. По результатам пострегистрационного клинического исследования комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» обладает благоприятным профилем безопасности. За время исследования было зафиксировано 545 эпизодов серьезных нежелательных явлений: 384 (1,5%) в группе «вакцина» и 161 (1,9%) в группе плацебо (при рандомизации в соотношении 3:1). Ни один из эпизодов не имел связи с применением вакцины или плацебо.

6. Иммунизация добровольцев комбинированной векторной вакциной «Гам-КОВИД-Вак» индуцирует образование антиген-специфичных IgG антител у 99% и вируснейтрализующих антител более чем у 94% вакцинированных, что указывает высокую иммуногенность данного препарата.

7. Иммунизация в режиме прайм-буст вакциной «Гам-КОВИД-Вак» приводит к достоверно меньшей заболеваемости, чем в группе плацебо. Эпидемиологическая эффективность вакцины через 2,5 месяца составила 91,6%, через 180 дней – 70,5%.

8. По результатам проведенных клинических исследований впервые зарегистрирована для медицинского применения и введена в гражданский оборот комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» (ЛП-006395).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

(жирным шрифтом отмечены публикации в рецензируемых изданиях: рекомендованных ВАК, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, патенты РФ)

1. **Зубкова О.В.** Комплексная оценка иммунологической активности рекомбинантных AD26 и AD5, экспрессирующих ген S белка вируса SARS-CoV-2. / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Попова О., Воронина Д.В., Зрелкин Д.И., Тухватулин А.И., Джаруллаева А.Ш., Должикова И.В., Щепляков Д.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Имунопатология, аллергология, инфектология.** – 2024. – №4. – С. 47-54.

2. Должикова И.В. Протективный потенциал структурных белков вируса SARS-CoV-2 в защите от COVID-19. / Должикова И.В., Гроусова Д.М., Зорков И.Д., Илюхина А.А., Ковыршина А.В., **Зубкова О.В.**, Попова О.Д., Ожаровская Т.А., Зрелкин Д.И., Савина Д.М., Самохвалова Е.Г., Тухватулин А.И., Щепляков Д.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2024. – Т. 101. – № 6. – С. 769–778.

3. **Зубкова О.В.** Исследование влияния оптимизации нуклеотидной последовательности целевого гена на иммуногенность рекомбинантного аденовирусного вектора. / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Попова О., Коробова Е.В., Голдовская П.П., Зрелкин Д.И., Щербинин Д.Н., Щепляков Д.В. // **Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.** – 2024. – Т. 42. – №4. – С. 43-48.

4. Сухова М.М. Вектор-нейтрализующая активность сывороточных антител при ревакцинации аденовирусной вакциной «Спутник Лайт». / Сухова М.М., Бязрова М.Г., Банделюк А.С., **Зубкова О.В.**, Михайлов А.А., Прилипов А.Г., Шмаров М.М., Филатов А.В. // **Иммунология.** – 2024. – Т. 45. – № 5. – С. 582–593.

5. Сухова М.М. Сравнение эффективности трансдукции дендритных клеток человека с помощью аденовирусных векторов различных серотипов. / Сухова М.М., Бязрова М.Г., Банделюк А.С., **Зубкова О.В.**, Михайлов А.А., Прилипов А.Г., Шмаров М.М., Филатов А.В. // **Иммунология.** – 2024. – Т. 45. – № 5. – С. 550–560.

6. Вавилова И.В. Исследование тропизма и биораспределения рекомбинантного аденовируса обезьян 25-го серотипа *in vitro* и *in vivo*. / Вавилова И.В., Ожаровская Т.А., **Зубкова О.В.**, Попова О., Воронина Д.В., Голдовская П.П., Зрелкин Д.И., Джаруллаева А.Ш., Должикова И.В., Щепляков Д.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2024. – Т. 101. – № 5. – С. 594–605.

7. Dolzhikova IV. Immunogenicity and Protectivity of Sputnik V Vaccine in hACE2-Transgenic Mice against Homologous and Heterologous SARS-CoV-2 Lineages Including Far-Distanced Omicron BA.5. / Dolzhikova IV, Tukhvatulina AI, Grousova DM, Zorkov ID, Komyakova ME, Ilyukhina AA, Kovyreshina AV, Shelkov AY, Botikov AG, Samokhvalova EG, Reshetnikov D.A., Siniavin A.E., Savina D.M.,

Shcheblyakov D.V., Izhaeva F.M., Dzhарullaeva A.S., Erokhova A.S., Popova O., Ozharovskaya T.A., Zrelkin D.I., Goldovskaya P.P., Semikhin A.S., **Zubkova O.V.**, Nedorubov A.A., Gushchin V.A., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. // **Vaccines**. – 2024. – Vol. 12. – № 10. – P. 1152.

8. Атауллаханов Р.И. Исследование антигенной специфичности Т-клеточных иммунных реакций в ответ на иммунизацию лабораторных мышей рекомбинантным аденовирусным вектором, кодирующим Spike-белок SARS-CoV-2. / Атауллаханов Р.И., Ушакова Е.И., Пичугин А.В., Лебедева Е.С., Иванов С.В., Ожаровская Т.А., Попова О., Щербинин Д.Н., Банделюк А.С., **Зубкова О.В.**, Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л. // **Иммунология**. – 2023. – Т. 44. – № 5. – С. 557-74.

9. Tukhvatulin, A.I. Safety and immunogenicity of rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine against SARS-CoV-2 in healthy adolescents: an open-label, non-randomized, multicenter, phase 1/2, dose-escalation study. / Tukhvatulin A.I., Dolzhikova I.V., Dzhарullaeva A.S., Grousova D.M., Kovyrshina A.V., **Zubkova O.V.**, Zorkov I.D., Iliukhina A.A., Shelkov A.Y., Erokhova A.S., Popova O., Ozharovskaia T.A., Zrelkin D.I., Izhaeva F.M., Shcheblyakov D.V., Esmagambetov I.B., Tokarskaya E.A., Nikitenko N.A., Lubenets N.L., Khadorich E.A., Gushchin V.A., Borzakova S.N., Vlasova A.V., Osmanov I.M., Gorev V.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. // **Front Immunol**. – 2023. – Vol. 14. – P. 1228461.

10. Tukhvatulin A.I. Immunogenicity and protectivity of intranasally delivered vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine Sputnik V in mice and non-human primates. / Tukhvatulin A.I., Gordeychuk I.V., Dolzhikova I.V., Dzhарullaeva A.S., Krasina M.E., Bayurova E.O., Grousova D.M., Kovyrshina A.V., Kondrashova A.S., Avdoshina D.V., Gulyaev S.A., Gulyaeva T.V., Moroz A.V., Illarionova V.V., Zorkov I.D., Iliukhina A.A., Shelkov A.Y., Botikov A.G., Erokhova A.S., Shcheblyakov D.V., Esmagambetov I.B., **Zubkova O.V.**, Tokarskaya E.A., Savina D.M., Vereveyko Y.R., Ungur A.S., Naroditsky B.S., Ishmukhametov A.A., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. // **Emerg Microbes Infect.** – 2022. – Vol. 11. – № 1. – P. 2229-2247.

11. Lapa D. Retention of Neutralizing Response against SARS-CoV-2 Omicron Variant in Sputnik V-Vaccinated Individuals. / Lapa D., Grousova D.M., Matusali G., Meschi S., Colavita F., Bettini A., Gramigna G., Francalancia M., Garbuglia A.R., Girardi E., Puro V., Antinori A., Kovyrshina A.V., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., **Zubkova O.V.**, Gushchin V.A., Logunov D.Y., Naroditsky B.S., Vaia F., Gintsburg A.L. // **Vaccines (Basel)**. – 2022. – Vol. 10. – № 5. – P. 817.

12. Tukhvatulin A.I. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. / Tukhvatulin A.I., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., **Zubkova O.V.**, Dzhарullaeva A.S., Kovyrshina A.V., Lubenets N.L., Grousova D.M., Erokhova A.S., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaia T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V.,

Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Gushchin V.A., Smolyarchuk E.A., Zubkova T.G., Zakharov K.A., Vasilyuk V.B., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. // **Lancet Reg Health Eur.** – 2021. – Vol. 11. – P. 100241.

13. Gushchin V.A. Neutralizing Activity of Sera from Sputnik V-Vaccinated People against Variants of Concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow Endemic SARS-CoV-2 Variants. / Gushchin V.A., Dolzhikova I.V., Shchetinin A.M., Odintsova A.S., Siniavin A.E., Nikiforova M.A., Pochtovyi A.A., Shidlovskaya E.V., Kuznetsova N.A., Burgasova O.A., Kolobukhina L.V., Iliukhina A.A., Kovyrshina A.V., Botikov A.G., Kuzina A.V., Grousova D.M., Tukhvatulin A.I., Shcheblyakov D.V., **Zubkova O.V.**, Karpova O.V., Voronina O.L., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Kunda M.S., Lioznov D.A., Danilenko D.M., Komissarov A.B., Tkachuk A.P., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. // **Vaccines (Basel).** – 2021. – Vol. 9. – № 7. – P. 779.

14. Logunov D.Y. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. / Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., **Zubkova O.V.**, Dzhharullaeva A.S., Kovyrshina A.V., Lubenets N.L., Grousova D.M., Erokhova A.S., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Gushchin V.A., Smolyarchuk E.A., Zyryanov S.K., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. // **Lancet.** – 2021. – Vol. 397. – № 10275. – P. 671-681.

15. Ковыршина А.В. Комбинированная векторная вакцина для профилактики Ближневосточного респираторного синдрома индуцирует формирование длительного протективного иммунного ответа к коронавирусу БВРС-КоВ. / Ковыршина А.В., Должикова И.В., Гроусова Д.М., Балясин М.В., Ботиков А.Г., Панина Л.В., Гордейчук И.В., Гуляев С.А., **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Попова О., Тухватулин А.И., Токарская Е.А., Симакова Я.В., Есмагамбетов И.Б., Щебляков Д.В., Евграфова И.М., Дерябин П.Г., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Иммунология.** – 2020. – Т. 41. – № 2. – С. 135-143.

16. Logunov D.Y. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia / Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., **Zubkova O.V.**, Tukhvatullin A.I., Shcheblyakov D.V., Dzhharullaeva A.S., Grousova D.M., Erokhova A.S., Kovyrshina A.V., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Lubenets N.L., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Morozova L.F., Smolyarchuk E.A., Kryukov E.V., Babira V.F., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. // **Lancet.** – 2020. – Vol. 396. – № 10255. – P. 887-897.

17. Должикова И.В. Доклинические исследования иммуногенности, протективности и безопасности комбинированной векторной вакцины для профилактики ближневосточного респираторного синдрома. / Должикова И.В., Гроусова Д.М., **Зубкова О.В.**, Тухватулин А.И., Ковыршина А.В., Лубенец Н.Л., Ожаровская Т.А., Попова О., Есмагамбетов И.Б., Щедляков Д.В., Евграфова И.М., Недорубов А.А., Гордейчук И.В., Гуляев С.А., Ботиков А.Г., Панина Л.В., Мишин Д.В., Логинова С.Я., Борисевич С.В., Дерябин П.Г., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Acta Naturae**. – 2020. – Т. 12. – № 3. – С. 114-123.

18. Ожаровская Т.А. Иммуногенность различных форм гликопротеина S коронавируса ближневосточного респираторного синдрома / Ожаровская Т.А., **Зубкова О.В.**, Должикова И.В., Громова А.С., Гроусова Д.М., Тухватулин А.И., Попова О., Щедляков Д.В., Щербинин Д.Н., Джаруллаева А.Ш., Ерохова А.С., Шмаров М.М., Логинова С.Я., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. // **Acta Naturae**. – 2019. – Т. 11. – № 1. – С. 38-47.

19. **Патент РФ RU 2720614 C1** на изобретение «Иммунобиологическое средство и способ его использования для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щедляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е. А., Ботиков А.Г., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 14. Опубликовано: 12.05.2020. Дата начала отсчета срока действия патента: 23.04.2020.

20. **Патент РФ RU 2731342 C9** на изобретение «Фармацевтическое средство и способ его использования для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щедляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е. А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Семихин А.С., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 25. Опубликовано: 01.09.2020. Дата начала отсчета срока действия патента: 22.08.2020.

21. **Патент РФ RU 2731356 C9** на изобретение «Экспрессионный вектор для создания иммунобиологического средства для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щедляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е. А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Никитенко Н.А., Семихин А.С., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 28. Опубликовано: 05.10.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 22.08.2020.

22. Патент РФ RU 2745307 C1 на изобретение «Способ очистки рекомбинантного аденовируса 26 серотипа (Ad26)». / Костарной А.В., Кондратьев А.В., Ганчева П.Г., Смирнова Н.С., Ожаровская Т.А., **Зубкова О.В.**, Попова О., Семихин А.С., Саморукова А.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. № 9. Опубликовано: 23.03.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 01.12.2020.

23. Патент РФ RU 2743963 C1 на изобретение «Средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 в жидкой форме (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 7. Опубликовано: 01.03.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 09.02.2021.

24. Патент РФ RU 2743962 C1 на изобретение «Средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 в лиофилизированной форме (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 7. Опубликовано: 01.03.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 10.02.2021.

25. Патент РФ RU 2744442 C1 на изобретение «Применение средства для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 у лиц старше 60 лет и/или имеющих хронические заболевания (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л., Чернецов В.А., Крюков Е.В., Бабира В.Ф., Кутаев Д.А., Логинова С.Ю. Бюл. № 7. Опубликовано: 09.03.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 21.02.2021.

26. Патент РФ RU 2744444 C1 на изобретение «Применение средства для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 для ревакцинации населения (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л., Чернецов В.А.,

Крюков Е.В., Бабира В.Ф., Кутаев Д.А., Логинова С.Ю. Бюл. № 7. Опубликовано: 09.03.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 21.02.2021.

27. Патент РФ RU 2761904 C1 на изобретение «Применение средства для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 у детей». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Борисевич С.В., Чернецов А.А., Крюков Е.В., Бабира В.Ф., Кутаев Д.А., Логинова С.Я. Бюл. № 35. Опубликовано: 13.12.2021. Дата начала отсчета срока действия патента: 26.11.2021.

28. Патент РФ RU 2765729 C1 на изобретение «Иммунобиологическое средство для индукции иммунного ответа против SARS-CoV-2 и способ его применения (варианты)». / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Зрелкин Д.И., Воронина Д.В., Щепляков Д.В., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Никитенко Н.А., Лубенец Н.Л., Семихин А.С., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Борисевич С.В., Чернецов А.А., Крюков Е.В., Бабира В.Ф., Кутаев Д.А., Логинова С.Я. Бюл. № 4. Опубликовано: 02.02.2022. Дата начала отсчета срока действия патента: 29.12.2021.

29. Патент РФ RU 2779634 C1 на изобретение «Иммунобиологическое средство и способ его использования для индукции специфического иммунитета против вирусов SARS-CoV-2 вариант В.1.617.2 (Delta) и SARS-CoV-2 вариант В.1.1.529 (Omicron) (варианты)» / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щепляков Д.В., Громова А.С., Гроусова Д.М., Джаруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Щербинин Д.Н., Кутаев Д.А., Логинова С.Я., Борисевич С.В., Шмаров М.М., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Бюл. № 26. Опубликовано: 12.09.2022. Дата начала отсчета срока действия патента: 19.08.2022.

30. Vidina A.D. The study of the serospecificity of antibodies to adenoviruses of various types. / Vidina A.D., Popova O., **Zubkova O.V.** // Scientific publishing house Infinity. – 2024. – №2. – P. 100 – 106.

31. **Zubkova O.V.** Correlation between the titer of igt-specific antibodies to the SARS-COV-2 virus and adenovirusneutralizing antibodies in volunteers after SPUTNIK V vaccination. / **Zubkova O.V.**, Ozharovskaia T.A., Popova O. // Scientific publishing house Infinity. – 2024. – №5. – P. 127 – 131.

32. **Зубкова О.В.** Исследование влияния ориентации экспрессионной кассеты в геноме рекомбинантного аденовирусного вектора на его иммуногенность. / **Зубкова О.В.**, Ожаровская Т.А., Попова О., Зрелкин Д.И., Вавилова И.В.,

Ижаева Ф.М., Голдовская П.П. // IV МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ ДНИ ВИРУСОЛОГИИ 2023. Сборник тезисов. –2023. – С. 138.

33. Голдовская П.П. Структура серопревалентности к трем серотипам аденовируса из подгруппы D. / Голдовская П.П., Бидина А.Д., Климкина И.А., Ожаровская Т.А., Попова О., **Зубкова О.В.** // СПб.: ПОЛИТЕХ-ПРЕСС. – 2023. – С. 28.

34. Горячева А.Н. Сравнительный анализ влияния ориентации экспрессионной кассеты на эффективность репликации аденовирусного вектора./ Горячева А.Н., Ожаровская Т.А., Попова О., Зрелкин Д.И., **Зубкова О.В.** // Всероссийская конференция молодых ученых «Вирусные инфекции – от диагностики к клинике», сборник тезисов. – 2023. – С. 32.

35. Бидина А.Д. Перекрестная активность вируснейтрализующих антител после вакцинации аденовирусом 26-го серотипа к аденовирусам 19-го и 37-го серотипов. / Бидина А.Д., Климкина И.А., Попова О., Зрелкин Д.И., Ожаровская Т.А., **Зубкова О.В.** // Сборник научных трудов «Взаимодействие науки и образования в системе управления знаниями». – 2022. – С 57.

36. Климкина И.А.. Структура серопревалентности к аденовирусам подгруппы С. / Климкина И.А., Бидина А.Д., Попова О., Вавилова И.В., Зрелкин Д.И., Ожаровская Т.А., **Зубкова О.В.** // Сборник научных трудов «Взаимодействие науки и образования в системе управления знаниями». – 2022. – С 66.

37. Кан В.Ю. Динамика антителобразования и изотипы антител в иммунном ответе мышцей Balb/c на S белок вируса SARS-COV-2. / Кан В.Ю., Бидина А.Д., Ожаровская Т.А., Воронина Д.В., **Зубкова О.В.** // Актуальная биотехнология. – 2021. – №1 (35). – С. 140.

38. Ozharovskaia T.A. Comparative analysis of biodistribution of adenoviral vectors subgroups C, D and E in Syrian hamsters / Ozharovskaia T.A., Dovgiy M.A., Popova O., Lysenko A.A., Tukhvatulina A.I., **Zubkova O.V.** // Future biomedicine, proceedings of conference series. – 2018. – №2. – P. 40.

39. Ожаровская Т.А. Биораспределение рекомбинантного аденовируса человека 5 серотипа при интерназальном и внутримышечном введении мышам / Ожаровская Т.А., Овчаренко Д.С., Артемова Э.А., Попова О., Картуесов А.Г., **Зубкова О.В.** // Материалы международного форума «Биотехнология: состояние и перспективы развития». – 2018. – №16. – С. 131-133.