

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА НА ДИССЕРТАЦИЮ ЗУБКОВОЙ ОЛЬГИ ВАДИМОВНЫ «РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ «ГАМ-КОВИД-ВАК» НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АДЕНОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА 26 И 5 СЕРОТИПОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ COVID-19», ПРЕДСТАВЛЕННОЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК ПО СПЕЦИАЛЬНОСТЯМ 3.2.7-ИММУНОЛОГИЯ и 1.5.10-ВИРУСОЛОГИЯ

Возникновение вирусных пандемий исторически являлось знаковым событием на пути развития социума. Не явилось исключением и недавняя пандемия, вызванная SARS-CoV, раскрывшая перед международным сообществом сравнительный уровень развития медико-биологических исследований, систему профилактики, особенности организации здравоохранения на национальном уровне. Первые результаты стали доступны общественности. Их анализ приводит к выводу, что наша страна в очередной раз доказала абсолютную состоятельность отечественной науки и с некоторыми издержками значительный уровень отечественного здравоохранения, системы профилактики и устойчивость экономики для обеспечения необходимых мероприятий по защите населения от новой вирусной инфекции. В этой связи без преувеличения можно сказать, что диссертационное исследование Ольги Владимировны Зубковой явилось одним из значительных элементов в вышеописанной цепочке факторов, повлиявших на общие позитивные итоги прохождения пандемии населением Российской Федерации. Данная диссертационная работа на базовом смысловом уровне была подготовлена историей развития отечественной иммунологии и вирусологии и тем высочайшим уровнем культуры исследований, который характерен для НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

Актуальность темы исследования не нуждается в подробной характеристике. Со всей очевидностью можно еще раз подчеркнуть, что новая коронавирусная инфекция, обернувшаяся беспрецедентной проблемой для всего мира, инициировала широкий пул пионерских работ в базовых областях наук о жизни и медико-биологические исследования в Российской Федерации и, в частности работы института имени Н.Ф. Гамалеи, обобщенные в рецензируемой работе сделали нашу страну одним из ведущих центров по борьбе с инфекцией.

В диссертационной работе справедливо отмечается, что 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. Стало очевидным, что наряду с карантинными мерами, требуются дополнительные разработки, направленные на получение терапевтических и профилактических препаратов. Известно, что в Российской Федерации было создано несколько вакцинных препаратов, по своим характеристикам вполне сравнимым с зарубежными разработками, однако Sputnik V (торговое название препарата, явившегося предметом данной диссертации) без преувеличения занимает в ряду отечественных вакцин особое место. Автор работы совершенно обоснованно выбрал векторный тип вакцины, базируясь на разработанной и зарегистрированной ранее для гражданского применения вакцина «ГамЭвак-Комби» против болезни, вызываемой вирусом Эбола. При этом необходимо отметить, что разработка вакцины против новой вирусной инфекции в центре имени Н.Ф. Гамалеи проходила в условиях жесткой конкуренции. Так, в начале 2020 года в ряде стран (США, Китае, Великобритании, ЕС и др.) стартовали интенсивные исследования по созданию вакцин против COVID-19. Ведущие международные и национальные регулирующие органы (ВОЗ, EMA, 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 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 обладала уникальными преимуществами, но и имела свои недостатки. 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. В качестве основной технологической платформы автором были выбраны репликативно-дефектные рекомбинантные аденовирусы. Аденовирусная платформа доказала свою безопасность в более чем 500 клинических исследованиях, проведенных до начала пандемии COVID-19. В центре имени Н.Ф.Гамалеи впервые в медицинской практике РФ был применен прайм-буст подход,

который позволил индуцировать длительный иммунный ответ у добровольцев (как минимум 2 года у более чем 90% участников).

Целью работы О.В. Зубковой явилось создание 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. Сама цель работы носила инновационный характер, так как использование двух серотипов аденовирусов с точки зрения иммунологии и теории вакцинации явилось достаточно революционным событием, отличившим разработку с участием диссертанта от многих других исследований.

Задачи исследования были весьма амбициозными и заключались в разработке вакцинного препарата «под ключ», а именно:

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 работы заключалась не только в уже отмеченной инновационной комбинации серотипов, но и в детальной разработке состава кандидатной комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» для профилактики COVID-19, но и в определении схемы иммунизации. Автором 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. К значительным успехам

диссертанта следует отнести и доказательство проективной активности вакцины «Гам-КОВИД-Вак», которая обеспечивает 100% защиту сирийских хомячков с индуцированным иммунодефицитом и 100% hACE2-трансгенных мышей от летальной инфекции SARS-CoV-2. Автором проведенный полный комплекс доклинических исследований разработанной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» и он подтвердил ее безопасность, иммуногенность и защитную эффективность. Одной из наиболее трудоемких частей диссертации является раздел, посвящённый клиническим исследованиям. 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. Автором показано, что впервые в рамках клинических исследований I – II фазы 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 противоинфекционного иммунитета. Впервые в рамках пострегистрационного клинического исследования определена эпидемиологическая эффективность вакцины. С наибольшей эффективностью вакцина защищает от средней и тяжелой форм заболевания. Автор уделил особое внимание оценке безопасности и иммуногенности препарата. Это позволяет утверждать о вероятном расширении возможности применения препаратов на основе рекомбинантных аденовирусов в клинической практике.

По результатам клинических исследований, в полном объеме вошедшим в данную диссертационную работу, 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.).

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. При проведении работы огромного масштаба всегда возникает вопрос о роли автора в проведении данного исследования. Диссертант специально концентрирует внимание читателей на том, что им лично отработаны условия накопления рекомбинантных Ад5 и Ад26. Остальные разделы работы физически не могли быть выполнены одним исследователем. Вместе с тем углубленный анализ диссертации приводит к выводу о высоком практически 95% личном вкладе диссертанта в реализацию всех разделов работы. Все материалы, использованные в диссертационной работе, проанализированы и обобщены лично автором.

Степень достоверности результатов не вызывает сомнений. 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.

Апробация работы и широкое ее обсуждение прошло на целом ряде крупных научных форумах. В частности, международном форуме «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2018); международной конференции «Future biomedicine, proceedings of conference series» (Moscow, 2018) и других. Работа прекрасно опубликована. 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.

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.

Литературный обзор написан четко и весьма лаконично. Он может быть рекомендован к публикации в качестве отдельного труда. Вместе с тем хотелось бы отметить, что поскольку диссертация защищается и по специальности «иммунология» в обзоре было бы интересно увидеть компактный раздел по иммунохимическим методам борьбы с новой инфекцией. В частности, желательно было бы увидеть успехи в разработке антительных нейтрализующих препаратов, что могло бы быть полезно в оценке протективной активности антител, индуцируемых разработанной автором вакцины. Указанные работы были опубликованы в период пандемии в ведущих научных журналах и имели резонанс. Возможно, крайне лапидарно следовало бы остановиться и на генетических аспектах вариаций пациентов и применения вакцины. Методическая часть написана очень четко и информативно. В качестве некой придирки хотелось бы упомянуть оценки экспрессии S белка (стр.95). Речь идет о количественной или полуколичественной оценке? Связанный с этим вопрос о чистоте белковых препаратов (стр. 129, Рис 15) Проводилась ли «оцифровка» полос на геле. Здесь автор делает вывод о чистоте препарата. Хотелось бы также поднять вопрос о характере индуцируемых в результате иммунизации антител. Автор прекрасно детально описывает их в разделе «Результаты». Вместе с тем неясно речь идет о вирус-связывающих или вируснейтрализующих антителах? Неплохо было бы более подробно описать генетические характеристики использованных мышей с «человеческим рецептором» ангиотензинпревращающим ферментом. Раздел «Результаты» в целом не вызывает возражений. Прекрасно изложен раздел по выбору потенциального антигена для иммунизации. Остальные разделы работы написаны четко и не вызывают возражений.

Работа Зубковой является законченным серьёзным исследованием в области иммунологии и вирусологии с доказанным практическим выходом. Оно полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским работам. Автореферат соответствует основному содержанию. Выводы абсолютно обоснованы. Сделанные замечания не умаляют достоинства работы. Диссертант полностью соответствует искомой степени.

Заключение

Диссертационное исследование, проведенное Зубковой О.В. на тему «Разработка комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов для профилактики COVID-19», является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена крупная научная

задача по созданию вакцины для профилактики COVID-19, имеющая важное научно-практическое значение в области здравоохранения.

По актуальности, совокупности новых научных результатов и научно-практической значимости диссертация Зубковой Ольги Вадимовны на тему «Разработка комбинированной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак» на основе рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов для профилактики COVID-19» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 и последующих редакций, внесенных Постановлениями Правительства РФ № 415 от 18.03.2023, № 1786 от 26.10.2023, № 62 от 25.01.2024 и № 1382 от 16.10.2024, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Зубкова Ольга Вадимовна, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7 – иммунология (биологические науки) и 1.5.10 – вирусология (биологические науки).

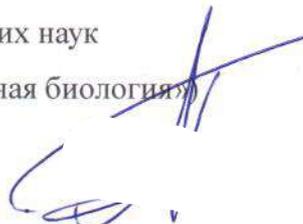
Директор ГНЦ ИБХ РАН

Академик, доктор химических наук

(специальность «молекулярная биология»)

Профессор


А.И. Габибов


Подпись профессора Александра Габибовича Габибова заверяю

Ученый секретарь ИБХ РАН, доктор физико-математических наук


Владимир Александрович Олейников


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) федеральное государственное бюджетное учреждение науки

государственный научный центр российской федерации

Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Российской академии наук

(ГНЦ ИБХ РАН) 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10

+74957273860

gabibov@mx.ibch.ru