



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



**Федеральное бюджетное учреждение науки  
«Государственный научный центр  
прикладной микробиологии и биотехнологии»  
(ФБУН ГНЦ ПМБ)**

Территория «Квартал А», д. 24, п. Оболенск, г.о. Серпухов,  
Московская область, 142279

тел: (4967) 36-00-03, факс: (4967) 36-00-10

e-mail: [info@obolensk.org](mailto:info@obolensk.org), <http://www.obolensk.org>

ОКПО 78095326 ОГРН 1055011113772 ИНН 5077018190 КПП 507701001

Утверждаю  
Директор ФБУН  
«Государственный научный  
центр прикладной  
микробиологии и  
биотехнологии»  
Роспотребнадзора  
Академик РАН, д.м.н.,  
профессор  
Дятлов И.А.



«30» сентября 2021 г

## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертационной работы Калиниченко Евгения Олеговича «Иммунобиологические свойства комплекса рекомбинантных белков OprF и анатоксина *Pseudomonas aeruginosa*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09. – клиническая иммунология, аллергология

**Актуальность избранной темы исследования.** *Pseudomonas aeruginosa* является одним из наиболее частых возбудителей внутрибольничных инфекций. Сложность терапии и высокая летальность определяют актуальность внедрения в практику стационаров различного профиля эффективных системных мер профилактики. Ученые пытаются разработать эффективную вакцину против *P.aeruginosa* уже более полувека. За это время было изучено множество антигенов *P.aeruginosa* и предложено несколько стратегий для разработки вакцины. Однако, несмотря на обширные усилия, на сегодняшний день до сих пор нет одобренных вакцин против *P. aeruginosa*. Подавляющее большинство прототипов вакцины показали свою низкую протективность еще в доклинических исследованиях. Сложность разработки эффективной вакцины против *Pseudomonas* обусловлена особенностью патогенеза, наличием разнообразных факторов вирулентности и большим количеством серотипов.

Благодаря множеству проведенных исследований стало ясным, что одними из наиболее перспективных антигенов для разработки вакцин являются белки внешней мембраны *P.aeruginosa*.

Целью диссертационной работы являлось - изучение иммунобиологических свойств комплекса рекомбинантных белков OprF и анатоксина *Pseudomonas aeruginosa*, адсорбированных на геле гидроксида алюминия, и исследование его влияния на эффекторы врожденного и адаптивного иммунитета.

**Научная новизна исследования и практическая значимость результатов диссертации.** В представленной диссертации были доказаны безопасность, переносимость и протективная активность комплекса рекомбинантных белков OprF и анатоксина *P. aeruginosa*; показаны усиление под их влиянием фагоцитарной и бактерицидной активности лейкоцитов и стимуляция синтеза цитокинов, с выраженным повышением уровня IL-17 в модельных системах; выявлено (*in vitro*) стимулирующее влияние препарата на созревание и дендритных клеток; показано влияние препарата на формирование адаптивного иммунного ответа с продукцией специфических антител IgG класса всех субизотипов к OprF и анатоксину с преобладанием субизотипа IgG1; увеличение доли активированных клеток, Т-хелперов, В-лимфоцитов и сокращение числа Т-киллеров в селезенке иммунных мышей.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 147 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав, содержащих результаты собственных исследований, заключения, выводов и рекомендаций, и списка использованной литературы, содержащего 289 источников (их них – 26 отечественных и 263 зарубежных авторов). Материал диссертации содержит 27 таблиц, иллюстрирован 4 рисунками.

Введение диссертационной работы отражает актуальность разработки методов профилактики и лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*. Цель и задачи работы четко сформулированы, охарактеризована научная значимость

исследований, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, которые и определяют научную и практическую значимость полученных результатов.

В главе «Обзор литературы» подробно описаны особенности жизнедеятельности *P. aeruginosa*, включая особенности иммунопатогенеза, а также рассмотрены основные направления разработки вакцин против *P. aeruginosa*.

Описанные методология и методы исследования, используемые в работе, были выбраны в соответствии с методами оценки безопасности иммунобиологических препаратов, описанными в Руководстве по доклиническим исследованиям иммунобиологических препаратов (под ред. А.Н. Миронова, 2013 г.) и XIV Государственной Фармакопее РФ. В диссертации подробно описаны методы оценки безопасности препарата, методы изучения врожденного и приобретенного иммунитета. При выполнении работ использовались современные подходы для выявления иммунологической перестройки организма, требующие глубоких знаний в области иммунологии, биохимии и физики.

В основной части исследований описаны результаты проверки комплексной безопасности рекомбинантных белков *P. aeruginosa*. В экспериментах на лабораторных животных оценивались острая токсичность, пирогенность и способность препаратов вызывать перестройку иммунной системы хозяина и развитие аллергических реакций.

На следующем этапе подробно описано влияние комплекса рекомбинантных белков *P. aeruginosa* на звено врожденного иммунитета. В данной части работы показан эффект препаратов на уровень фагоцитарной активности лейкоцитов и завершенность фагоцитоза; индукцию дифференцировки и созревания дендритных клеток, которые оценивались по фенотипическим и эффекторным признакам клеток; а также изменение цитокинового профиля периферической крови мышей, иммунизированных рекомбинантными белками *P. aeruginosa*.

Как следует из материалов диссертационной работы иммунизацию мышей проводили комплексом рекомбинантных белков, содержащих анатоксин и OprF, адсорбированных на гидроксиде алюминия. Остается неясным чистота белков, их концентрация и молярное соотношение в вакцинной дозе. Также не описано каким образом выбирались доза и интервал между иммунизациями для изучения иммунологической перестройки в организме.

Наиболее важной оценкой является выявление специфической перестройки иммунной системы организма под влиянием изучаемых препаратов. Для этого в работе использовались методы цитометрии, позволяющие оценивать вклад отдельных популяций и субпопуляций клеток в формирование протективного специфического иммунного ответа. Уровень и длительность гуморального иммунного ответа также были проанализированы. Для доказательства эффективности иммунологической перестройки и характеристики протективных свойств комплекса рекомбинантных белков были проведены эксперименты на мышах.

В главе «Заключение» подведен итог значительной по объему проделанной работы. Корректно обобщены и детально проанализированы полученные данные.

Выводы, представленные автором, отражают результаты собственного исследования и соответствуют поставленным перед исследованием задачам.

По материалам диссертации опубликовано 10 статей, рекомендованных ВАК и 7 тезисов.

**Заключение.** Диссертационная работа Калиниченко Евгения Олеговича отличается высоким уровнем научных исследований и практической значимостью полученных результатов. Она выполнена на значительном объеме экспериментальных данных с использованием широкого перечня современных методов исследования. Показанные автором безопасность, переносимость и протективная активность комплекса рекомбинантных белков OprF и анатоксина *P. aeruginosa* позволяет рекомендовать препарат к дальнейшим доклиническим и клиническим испытаниям.

Диссертационная работа Калиниченко О.Е. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, « 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018) предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв обсужден на заседании Ученого Совета ФБУН ГНЦ ПМБ, протокол №8 от 29 ноября 2021 г.

Заместитель директора по научной работе  
Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
доктор биологических наук, профессор  
03.00.07. - Микробиология

Подпись И.Г. Шемякина заверяю  
Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ПМБ  
д.б.н.



Шемякин Игорь Георгиевич

Коломбет Любовь Васильевна

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
142 279, РФ, Московская область, г. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24, тел. (4967) 36-0003, факс (4967)36-0010, e-mail: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>.