

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Калюжина Олега Витальевича на диссертацию Зайцева Антона Евгеньевича «Иммуногенность и протективная активность конъюгированных олигосахаридов – синтетических аналогов фрагментов капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы

Успешное применение в клинической практике полисахаридных и конъюгированных пневмококковых вакцин не исключает проведения исследований по их совершенствованию.

В настоящее время разработка пневмококковых вакцин ведется в трех основных направлениях: расширение спектра действия существующих вакцин за счет включения в их состав капсульных полисахаридов новых клинически значимых серотипов пневмококка; получение рекомбинатных белков пневмококка с серотипнезависимой протективной активностью; использование методов биоорганического синтеза углеводных фрагментов, соответствующих антигенным и иммуногенным структурам капсульных полисахаридов пневмококка.

В последние годы произошел существенный прогресс в разработке вакцин на основе синтетических углеводных лигандов. Лицензирована полусинтетическая вакцина QuimiHib для защиты от гемофильной инфекции типа b, разрабатывают вакцины против госпитальных инфекций, вызванных *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae* и др.

В диссертационной работе Зайцева Антона Евгеньевича проведено исследование иммунобиологической активности синтетических ди-, три- и тетрасахаридов, соответствующие одному, полутора и двум повторяющимся звеньям капсульного полисахарида *S. pneumoniae* серотипа 3. Среди клинически значимых серотипов пневмококка особого внимания заслуживает *S. pneumoniae* серотипа 3, так вызываемые им патологические процессы, ассоциированы с высоким риском летального исхода у взрослых и детей. Наряду с этим показано, что иммунизация существующими пневмококковыми вакцинами, содержащими в своем составе капсульный полисахарид *S. pneumoniae* серотипа 3, не привела к снижению распространенности этого серотипа пневмококка. Данные литературы по

иммуногенности и профилактической эффективности капсульного полисахарида пневмококка серотипа 3 – неоднозначны.

Научная новизна и практическая значимость результатов диссертационной работы

Научная новизна исследования не вызывает возражений. Автором впервые установлена взаимосвязь между химической структурой и иммунологической активностью трех олигосахаридов с различной длиной цепи, соответствующих фрагментам капсульного полисахарида *S. pneumoniae* серотипа 3.

Олигосахариды и их конъюгаты с белком-носителем в России синтезирует только одна группа исследователей на базе Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН. То есть полученные автором данные имеют несомненную научную новизну, что подтверждается публикацией автором статьи в журнале первого квартала.

Автором впервые показано, что синтетические ди-, три- и тетрасахариды, имеют общие иммунологически активные антигенные структуры с капсульным полисахаридом *S. pneumoniae* серотипа 3. При этом наибольшей способностью к активации эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета обладает тетрасахарид.

Использование биотинилированных олигосахаридов в ИФА позволило получить важные данные о том, что тетрасахарид взаимодействует исключительно с антителами к капсульному полисахариду *S. pneumoniae* серотипа 3, и не вступает в реакцию с антителами к капсульным полисахаридам других серотипов пневмококка.

Впервые показана высокая протективная активность адсорбированных на геле алюминия гидроксида конъюгатов олигосахаридов при заражении мышей штаммом *S. pneumoniae* серотипа 3.

На примере конъюгата дисахарида автором впервые выявлены особенности действия конъюгированных олигосахаридов на продукцию цитокинов и экспрессию поверхностных маркеров на мононуклеарных лейкоцитах селезенки мышей.

Полученные автором данные вносят вклад в понимание иммунологических механизмов поствакцинальной защиты от пневмококковой инфекции.

Значение полученных результатов исследования для практики очевидно. Синтетический тетрасахарид, при условии его конъюгации с белками – носителями, разрешенными к применению в клинической

практике, может быть использован для разработки полусинтетической пневмококковой вакцины против *S. pneumoniae* серотипа 3 или входить в состав поливалентных пневмококковых вакцин. Биотинилированный тетрасахарид является перспективным кандидатом для конструирования высокоспецифичных ИФА тест-систем, позволяющих идентифицировать капсульный полисахарид *S. pneumoniae* серотипа 3 или определять уровень антител к нему.

Степень достоверности результатов и обоснованности научных положений и выводов диссертации

Сформулированные в диссертационной работе научные положения и выводы основаны на данных экспериментальных исследований и не вызывают сомнений. Наличие общих антигенных детерминат у синтетических олигосахаридов и капсульного полисахарида *S. pneumoniae* серотипа 3 определяли методом ИФА в различных модификациях. Протективная активность гликоконъюгатов доказана в опытах активной защиты мышей от заражения вирулентным штаммом *S. pneumoniae* серотипа 3. Опсонофагоцитарную активность, продукцию ключевых цитокинов и экспрессию поверхностных молекул на мононуклеарных лейкоцитах селезенки мышей определяли методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты исследований получены на сертифицированном оборудовании, с использованием качественных реактивов и линейных мышей. Штамм *S. pneumoniae* серотипа 3, использованный для заражения мышей, получен в ЦКП «НИИВС им. И.И. Мечникова». Показана воспроизводимость результатов исследования. Все опыты сопровождали адекватными контролями. Результаты статистически обработаны с использованием современной компьютерной программы Statistica 10. Выбор методов статистической обработки данных является обоснованным.

Публикации в полной мере отражают основные положения и результаты диссертационной работы.

Структура и объем диссертации

Диссертация Зайцева А.Е. построена по традиционному плану. Материалы диссертации изложены на 134 страницах, иллюстрированы 19 таблицами, 5 рисунками, 1 схемой и 1 фотографией. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав, содержащих результаты собственных исследований, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 202 источника (в том числе 10 отечественных и 192 зарубежных).

В разделе «Введение» обоснована актуальность проблемы. Четко сформулирована цель работы, которая раскрыта в задачах исследования. Научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы и положения, выносимые на защиту конкретны и точны.

Раздел «Обзор литературы», состоит из 2 глав, в которых представлен анализ отечественных и, преимущественно, зарубежных исследований, отражающих современную эпидемиологическую ситуацию по распространению различных серотипов, в том числе серотипом 3, а также данные по профилактике пневмококковой инфекции с помощью полисахаридных и конъюгированных пневмококковых вакцин. Обоснована необходимость их дальнейшего совершенствования, в том числе, с использованием конъюгированных синтетических олигосахаридов.

В разделе «Материалы и методы» автор подробно описывает использованные в работе препараты, а также иммунологические и иммунохимические методы исследования.

Раздел «Результаты» представлен тремя главами, в которых последовательно продемонстрирована антигенная, иммуногенная и протективная активность гликоконъюгатов, в сравнении с конъюгированным капсульным полисахаридом *S. pneumoniae* серотипа 3, входящим в состав широко применяемой в практике 13-валентной пневмококковой вакцины Превенар 13. Представлены результаты молекулярно-клеточных исследований, подтверждающие иммунологическую активность использованных в работе гликоконъюгатов. Полученные автором данные являются убедительными.

В разделе «Заключение» автор проводит анализ полученных результатов и сравнивает их с данными мировой литературы, обосновывая перспективность использования синтетического тетрасахарида в качестве компонента пневмококковой вакцины третьего поколения, а также для конструирования ИФА тест-систем.

Выводы соответствуют задачам исследования и возражений не вызывают.

Автореферат отражает основные положения диссертационной работы.

Диссертационная работа характеризуется внутренним единством, изложена хорошим литературным языком.

Принципиальных замечаний по научному содержанию и оформлению работы нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Зайцева Антона Евгеньевича «Иммуногенность и протективная активность конъюгированных олигосахаридов – синтетических аналогов фрагментов капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3» является законченным научно-квалификационным трудом на актуальную тему, в котором содержится решение научной задачи определения иммунобиологических свойств конъюгатов олигосахаридов, соответствующих фрагментам капсульного полисахарида *S. pneumoniae* серотипа 3, что модернизирует представления о механизмах поствакцинальной защиты от пневмококковой инфекции и вносит существенный вклад в развитие фундаментальной и прикладной иммунологии.

Таким образом, диссертационная работа Зайцева Антона Евгеньевича полностью отвечает требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства России №842 от 24.09.2013 (с изменениями в редакции постановлений Правительства России №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, №426 от 20.03.2021), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент: профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), доктор медицинских наук по специальности 3.2.7 – Аллергология и иммунология (по номенклатуре, утвержденной приказом Минобрнауки от 23.10.2017 №1027: 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология),

профессор

Каложин Олег Витальевич

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2. Тел.: +7(499) 248-05-53, +7(495) 609-14-00. Сайт: <https://www.sechenov.ru>. E-mail: expedition@mma.ru, rektorat@sechenov.ru

