

**Оценка эффективности в
доклинических
исследованиях лекарственных
средств для профилактики и
лечения инфекции SARS-CoV-2**



Шипаева Елена Владимировна, к.м.н.,
Руководитель отдела доклинических исследований
Медицинская Дирекция
АО «Р-Фарм»
shipaeva@rpharm.ru



Разработка лекарственных средств для профилактики и лечения инфекции SARS-CoV-2



*с оптимизированными лекарственными свойствами, допустимы доклинические исследования безопасности и ФК, допустимы исследования безопасности у людей и ФК



Постановление Правительства РФ от 3 апреля 2020 г. № 441

4. Допускается представление в разделе клинической документации предусмотренного частью 7 статьи 18 Федерального закона "Об обращении лекарственных средств" **сводного краткого отчета** об имеющихся на момент подачи заявления о государственной регистрации лекарственного препарата результатах изучения эффективности и безопасности лекарственного препарата в рамках клинических исследований, содержащего всю доступную информацию **о физических, химических, фармацевтических, фармакологических, токсикологических, фармакокинетических, метаболических и клинических свойствах лекарственного препарата.**

Допускается государственная регистрация лекарственного препарата при представлении не в полном объеме документов, указанных в части 7 статьи 18 Федерального закона "Об обращении лекарственных средств".

...

5. В случаях, указанных в пункте 4 настоящего документа, необходимо представление результатов достаточного объема проведенных доклинических исследований, которые соответствуют следующим условиям:

а) благоприятный эффект лекарственного препарата регистрируется на нескольких видах животных, в том числе на одном крупном виде;

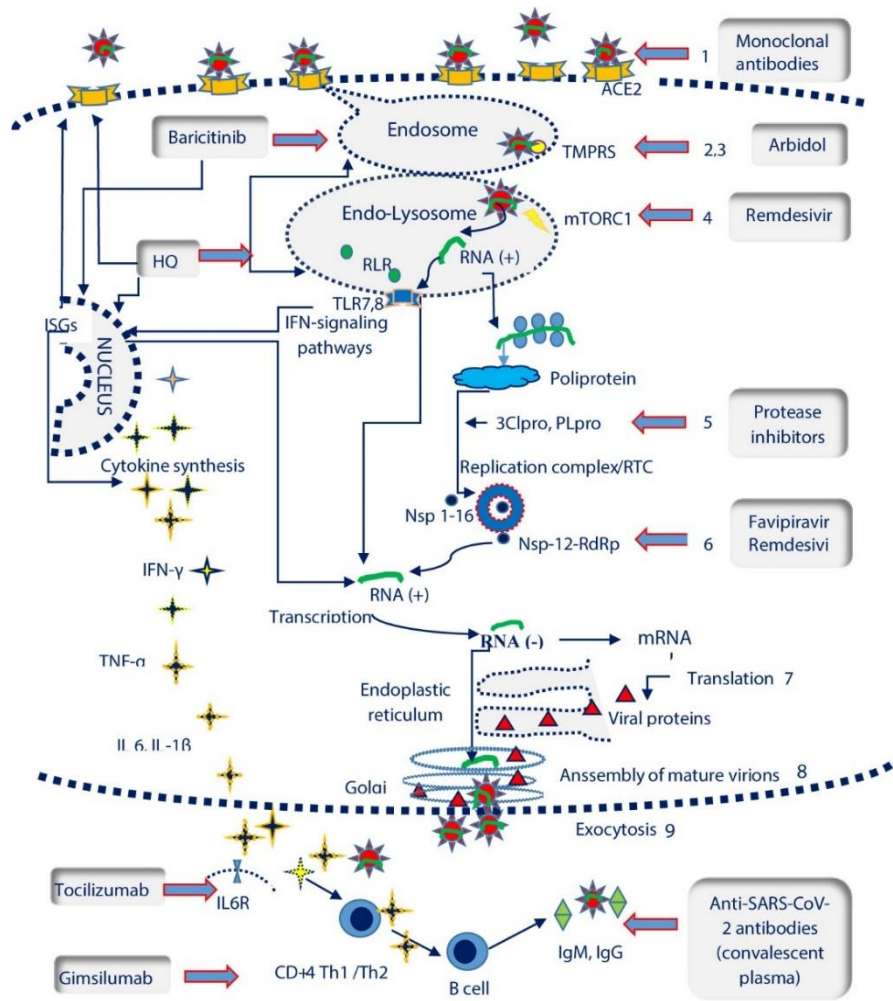
б) результат исследования на животных однозначно и явно связан с ожидаемым положительным эффектом действующего вещества лекарственного препарата, который проявляется увеличением выживаемости или сокращением числа осложнений;

в) при анализе данных по изучению фармакокинетики и фармакодинамики лекарственного препарата получены результаты, позволяющие выбрать эффективную дозу для человека.

Постановление Правительства РФ от 03.04.2020 N 441 (ред. от 30.12.2021) "Об особенностях обращения лекарственных препаратов для медицинского применения, которые предназначены для применения в условиях угрозы возникновения, возникновения и ликвидации чрезвычайной ситуации и для организации оказания медицинской помощи лицам, пострадавшим в результате чрезвычайных ситуаций, предупреждения чрезвычайных ситуаций, профилактики и лечения заболеваний, представляющих опасность для окружающих, заболеваний и поражений, полученных в результате воздействия неблагоприятных химических, биологических, радиационных факторов"



Жизненный цикл SARS-CoV-2 и потенциальные терапевтические мишени

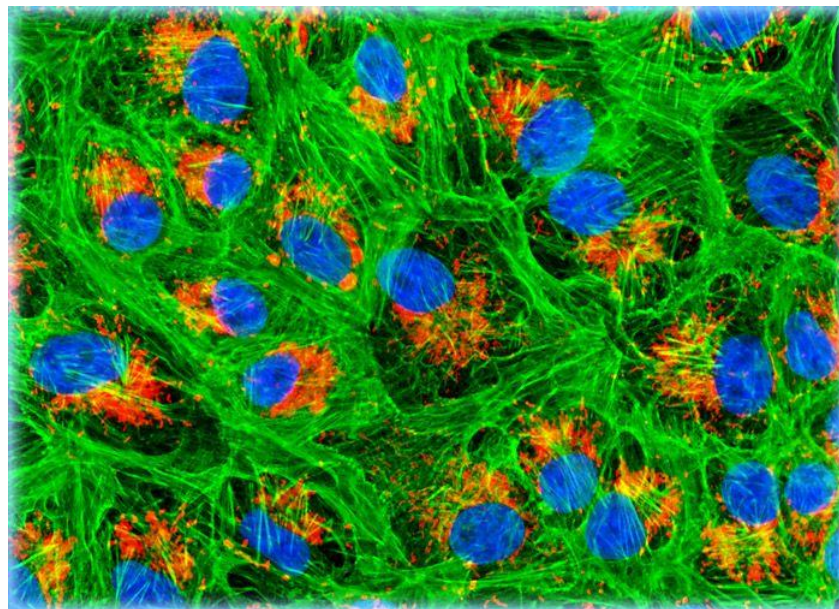


Simona Iacob and Diana Gabriela Iacob SARS-CoV-2 Treatment Approaches: Numerous Options, No Certainty for a Versatile Virus
Front. Pharmacol., 26 August 2020, <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01224>



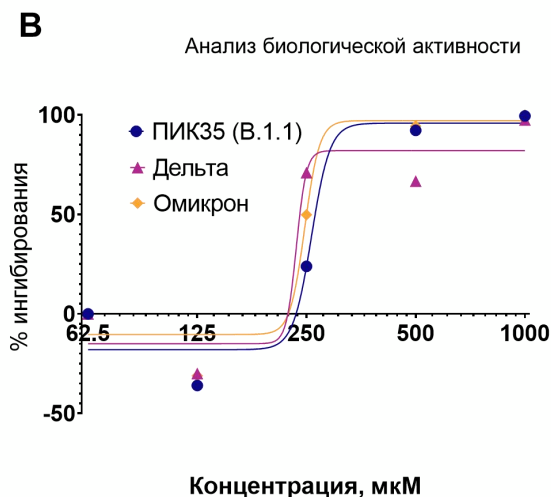
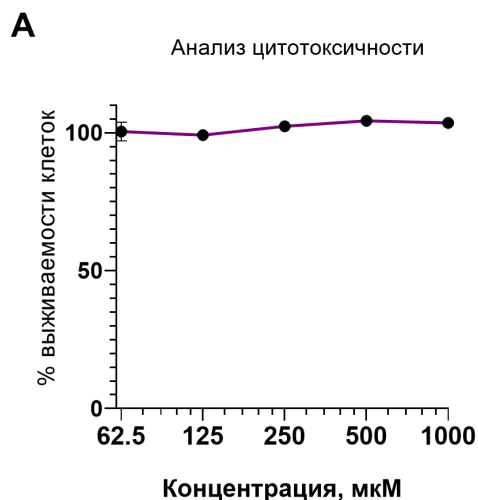
Изучение ингибирования вирус-индуцированной цитотоксичности в культурах клеток

Клетки Vero (эпителий почки зеленой мартышки) - экспрессия ангиотензинпревращающего фермента 2 типа (АПФ2) и отсутствие выработки собственного интерферона.





Противовирусная активность фавипиравира в отношении SARS-CoV-2 - дельта и омикрон

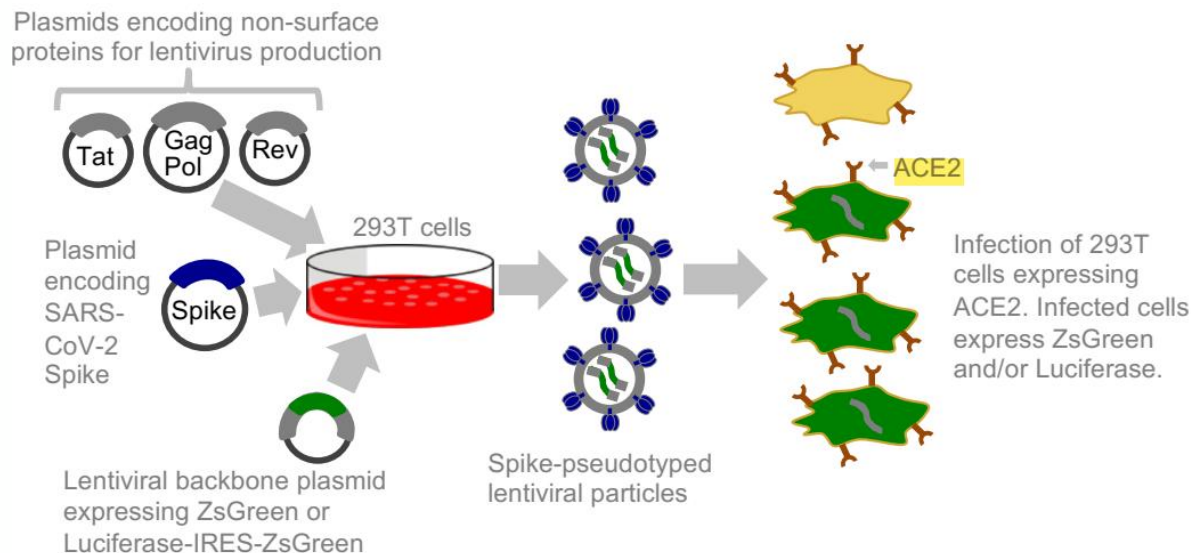


Была изучена *in vitro* противовирусная активность препарата против 3 вариантов коронавируса SARS-CoV-2: штаммов В.1.1, дельта и омикрон в клетках Vero. Результаты оценивали по уменьшению урожая вирусной РНК в зараженных клетках методом ПЦР с обратной транскрипцией с детекцией в режиме реального времени.

Фавипиравир эффективно ингибировал репродукцию SARS-CoV-2, при этом ингибирующая концентрация EC_{50} существенно не различалась между вариантами вируса, находясь в интервале 200-300 мкМ для всех штаммов.



Использование псевдовирюсов для оценки эффективности анти-SARS-CoV-2 препаратов



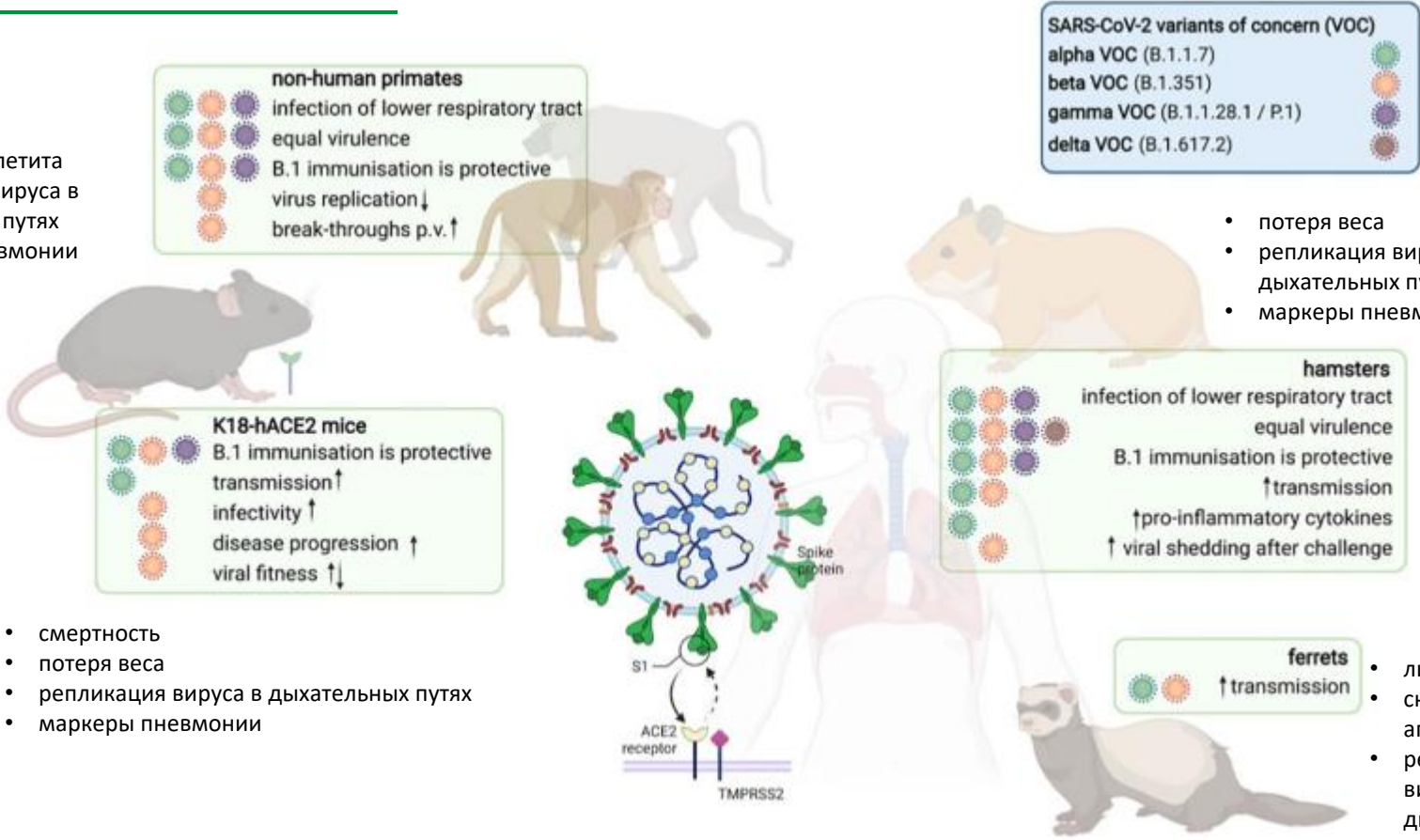
Клетки 293Т трансфицируют плазмидой, кодирующей лентивирусный остов, экспрессирующий GFP-IRES-люциферазу, плазмидами, экспрессирующими белки ВИЧ, необходимыми для образования вириона, Tat, Gag-Pol и Rev, и плазмидой, экспрессирующей белок Spike-Δ18. Трансфицированные клетки продуцируют псевдотипированные лентивирусные частицы с шипами SARS-CoV-2 S на их поверхности. Эти вирусные частицы способны инфицировать клетки, экспрессирующие ACE2.

Используют клеточную линию эмбриона человека 293Т, экспрессирующую человеческий ACE2 (ACE2-293Т). При инфекции, опосредованной S-белком, клетки ACE2-293Т экспрессируют GFP для визуализации и люциферазу для количественного анализа.



In vivo модели инфекции SARS-CoV-2

- снижение аппетита
- репликация вируса в дыхательных путях
- маркеры пневмонии



- смертность
- потеря веса
- репликация вируса в дыхательных путях
- маркеры пневмонии

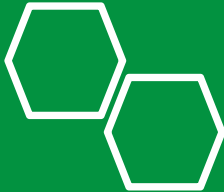
- потеря веса
- репликация вируса в дыхательных путях
- маркеры пневмонии

- лихорадка
- снижение аппетита
- репликация вируса в дыхательных путях
- маркеры пневмонии

huACE2, human angiotensin I-converting enzyme 2; K18, cytokeratin-18; SARS-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2; VOC, variant of concern.



Низкомолекулярные препараты





ДКИ эффективности низкомолекулярных препаратов

Препарат

Доклинические исследования эффективности

Ремдесивир (Veklury) - пролекарство ингибитор РНК-полимеразы нуклеотидного аналога SARS-CoV-2 (с активностью его нуклеозидтрифосфатного метаболита), вводимое путем внутривенной инфузии в течение 30–120 минут в течение 3 дней

Проводили исследования противовирусной активности и ингибирования репликации *in vitro*, а также определение профиля резистентности в клеточной культуре и на мышинной модели. Ремдесивир показал противовирусную активность у **макак-резус**, инфицированных SARS-CoV-2. Были проведены различные исследования цитотоксичности.

Молнупиравир (Lagevrio в ЕС и Великобритании) -5'-изобутиратное пролекарство противовирусного аналога рибонуклеозида N-гидроксицитидина (NHC), ингибирует репликацию SARS-CoV-2, вызывая накопление нуклеотидных изменений в вирусной РНК, принимается перорально каждые 12 часов в течение 5 дней

Изучалась противовирусная активность в клеточной культуре против различных вариантов вируса с оценкой резистентности и перекрестной резистентности, включая использование фенотипического анализа на основе репликонов SARS-CoV-2, а также цитотоксичность и нецелевое действие (в основном с NHC) плюс анти-SARS-CoV-2 активность у **гуманизированных мышей** с имплантированной подкожно легочной тканью человека, а также на моделях заражения **сирийских хомяков и хорьков**.

Паксловид - (нирматрелвир = ингибитор протеазы SARS-CoV-2 в комбинации с ритонавиром = ингибитор протеазы ВИЧ-1 [в качестве фармакокинетического усилителя]), принимается перорально два раза в день в течение 5 дней

Оценку связывания и противовирусной активности нирматрелвира (ритонавир не проявлял активность против SARS-CoV-2), изучение резистентности и перекрестной резистентности с использованием клеточных культур, а также измерение протеазной активности и цитотоксичности. Противовирусную активность оценивали на **мышинной модели инфекции SARS-CoV-2**.

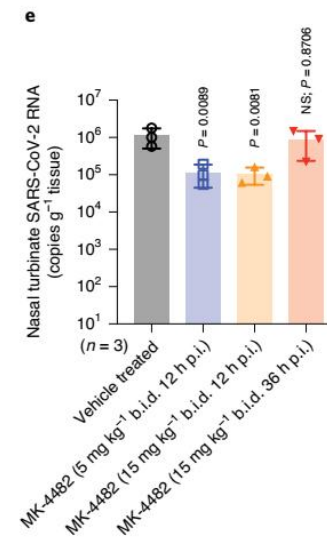
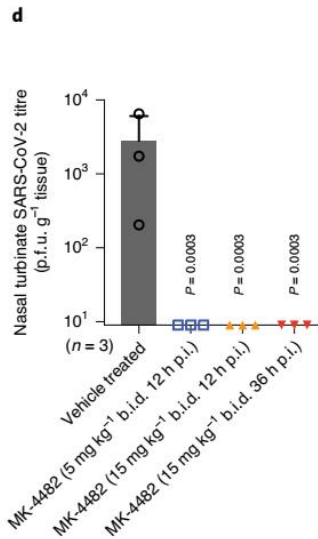
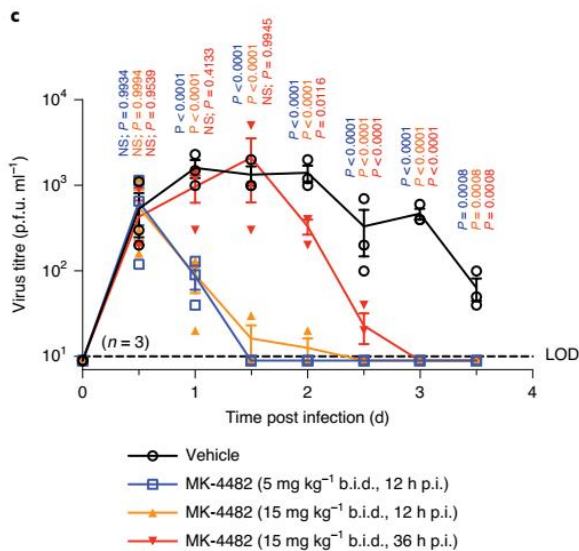
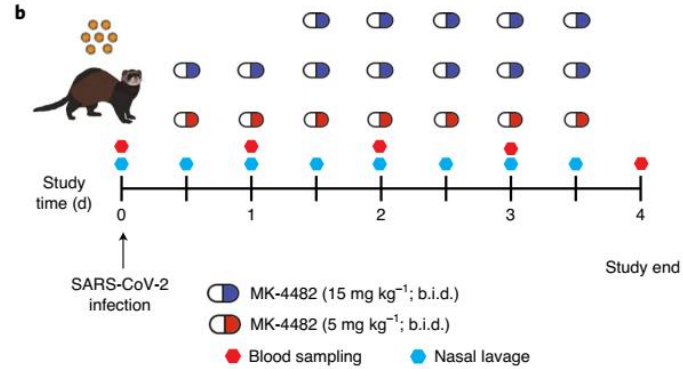
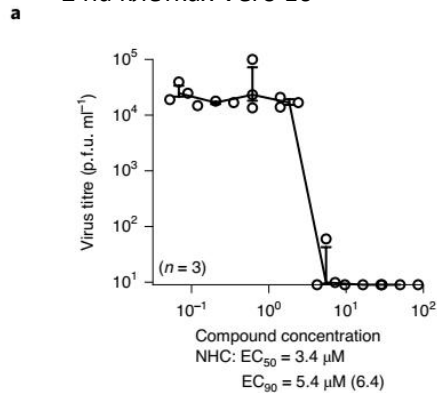




Эффективность молнупиравира – *in vitro* и *in vivo* у хорьков



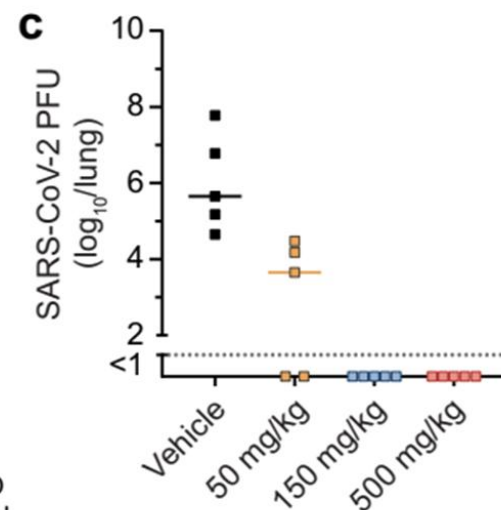
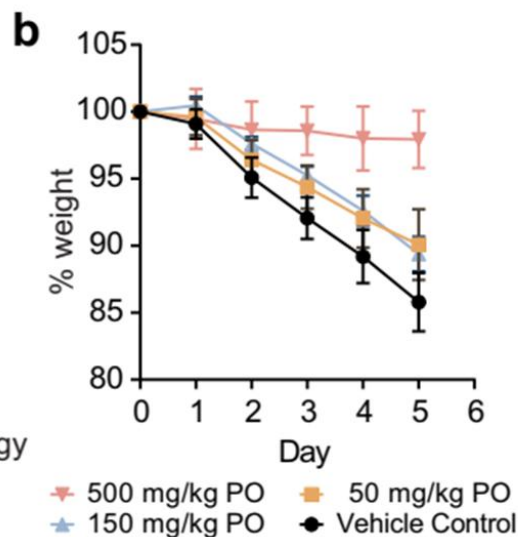
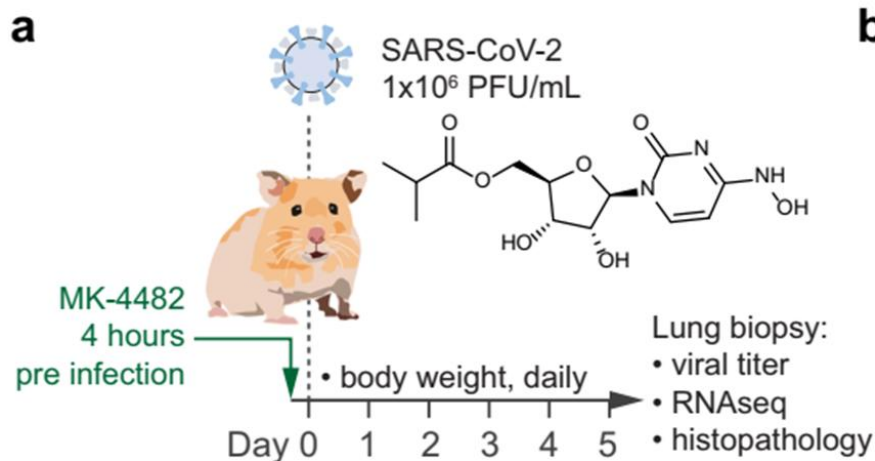
In vitro ингибирование SARS-CoV-2 на клетках Vero E6



Быстрая элиминация вируса после начала применения молнупиравира у хорьков MK-4482 = молнупиравир



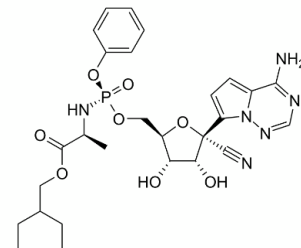
Эффективность молнупиравира *in vivo* у хомяков



MK-4482 = молнупиравир



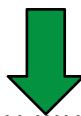
Исследование эффективности *in vivo* Ремдесивира



Ремдесивир – противовирусный препарат, нуклеотидный аналог.

1 мая 2020 г. FDA выдало «разрешение для экстренного использования» препарата Ремдесивир для лечения COVID-19 в США.

- Две группы из шести макак-резус были инфицированы SARS-CoV-2.
- Ремдесивир вводили внутривенно. Контрольная группа получала носитель один раз в день.
- Регистрировали клинические признаки, вирусологические параметры, проводили гистопатологические исследования.



- В отличие от макак, получавших носитель, у животных, получавших ремдесивир, не было признаков респираторного заболевания, была уменьшена выраженность легочных инфильтратов на рентгенограммах.
- Титры вируса в бронхоальвеолярном лаваже были значимо меньше уже через 12 часов после первого введения препарата.
- При вскрытии на 7-й день после инокуляции вирусная нагрузка на легкие животных, получавших ремдесивир, была значительно ниже и наблюдалось явное снижение повреждения легочной ткани по сравнению с контролем.



Рентгеновские снимки макак с SARS-CoV-2 после введения Ремдесивира

Ремдесивир

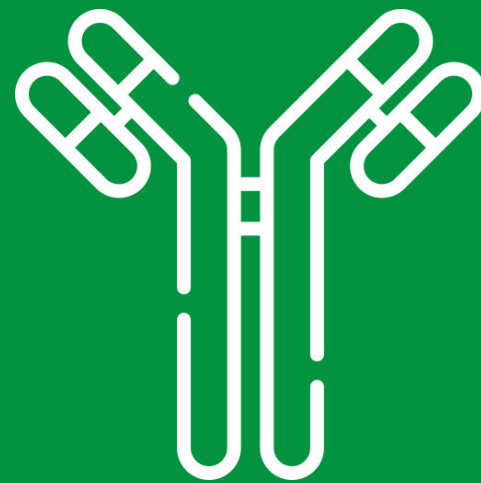


Контроль





Препараты на основе МОНОКЛОНАЛЬНЫХ антител





ДКИ эффективности препаратов на основе моноклональных антител

Моноклональные антитела

Касиривимаб/имдевиваb (REGEN-COV в США и Ronapreve в ЕС) - рекомбинантные моноклональные антитела IgG1 человека к RBD шиповидного белка SARS-CoV-2, которые вводят вместе в виде однократной внутривенной инфузии в течение как минимум 60 минут.

Тиксагевимаб/силгавимабар (Evusheld) - нейтрализующие моноклональные антитела IgG1, которые связываются с отдельными, неперекрывающимися эпитопами в пределах RBD шиповидного белка SARS-CoV-2, вводят в виде 2 отдельных последовательных внутримышечных инъекций.

Бамланивимаб/этесевимаб - рекомбинантные нейтрализующие моноклональные антитела IgG1к человека к шиповидному белку SARS-CoV-2 (связываются с разными, но перекрывающимися эпитопами в RBD), которые вводят вместе в виде однократной внутривенной инфузии.

Сотровимаб (Xevudy в ЕС) - моноклональное антитело IgG1к человека, связывающее шиповидный белок RBD SARS-CoV-2, вводимое в виде внутривенной инфузии в течение 30 минут.

Регданвимаб (Regkirona) - рекомбинантное моноклональное антитело IgG1 человека, которое связывается с RBD шиповидного белка SARS-CoV-2 вводят в виде однократной внутривенной инфузии.

Бетеловимаб - рекомбинантное нейтрализующее моноклональное антитело IgG1к человека к шиповидному белку SARS-CoV-2, вводят в виде однократной внутривенной инъекции в течение не менее 30 с.

Доклинические исследования эффективности

Исследования картирования эпитопов, связывания, нейтрализации (включая альфа- и бета-варианты), эффекторной функции, резистентности и антителозависимого усиления инфекции. Активность in vivo оценивали на моделях инфекции SARS-CoV-2 на **хомяках и макаках-резус**.

Связывание, противовирусная и нейтрализующая активности (включая альфа-, бета-, гамма- и дельта-варианты [плюс вариант омикрон для поддержки разрешения в Великобритании]) на моделях инфекции SARS-CoV-2 на сирийских **хомяках и макаках-резус** и модели заражения SARS-CoV-2 у **яванских макак** (плюс тестировании клеточного и гуморального иммунного ответа на **мышах и яванских макаках**).

Исследования картирования эпитопов, связывания, нейтрализации (включая альфа- и бета-варианты, с гамма-вариантом, действующим на момент регистрации), эффекторной функции, резистентности и антителозависимого усиления инфекции (клеточная культура и в модели инфекции SARS-CoV-2 у **африканских зеленых мартышек**). Противовирусную активность оценивали как для двух моноклональных антител в модели профилактики на **макаках-резус**, так и для лечения только этесевимабом.

Картирование эпитопов, анализы связывания и нейтрализации (включая альфа-, бета- и гамма-варианты), исследования эффекторной функции, Fc-зависимые механизмы действия, опосредованные NK-клетками уничтожение и опосредованный моноцитами фагоцитоз, а также антителозависимое усиление инфекции на SARS-CoV-2 модели сирийского золотистого **хомяка**.

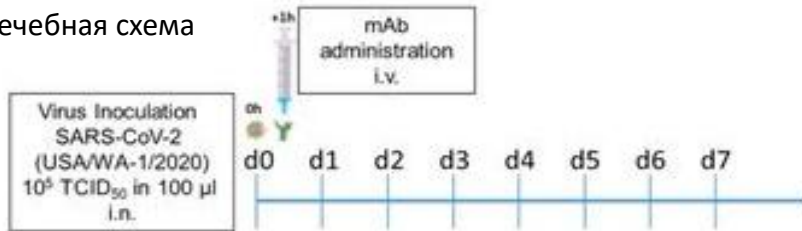
Исследования включали картирование эпитопов, связывание и нейтрализацию (включая альфа-, бета-, гамма- и дельта-варианты), тестирование эффективности in vivo против инфекции SARS-CoV-2 у **трансгенных мышей** (экспрессирующих человеческий ангиотензинпревращающий фермент 2 [hACE2]), **сирийских хомяков, хорьков и макак-резус**.

Оценивали в исследованиях картирования эпитопов, связывания, нейтрализации (включая альфа-, бета-, гамма-, дельта- и омикрон), эффекторной функции, резистентности. Бетеловимаб также оценивали на активность в модели инфекции SARS-CoV-2 на **хомяках** и на антителозависимое усиление инфекции у **африканских зеленых мартышек**.



Результаты исследований «ловушек» SARS-COV-2 – STI-1499

Лечебная схема

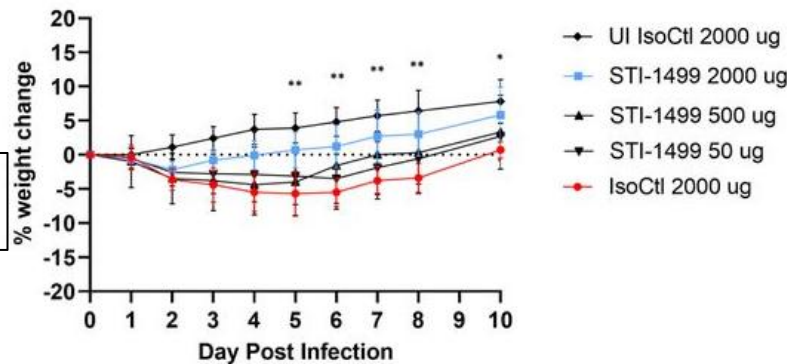


Доза вируса 10^5 TCID/100 µl
Введение препарата – в/в через 1 час после заражения

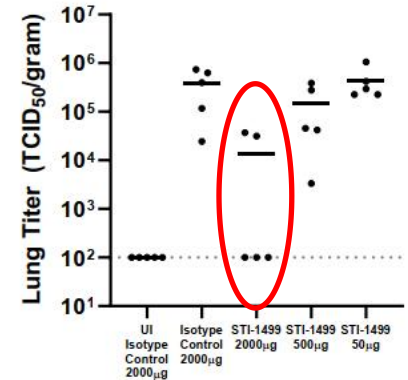


IC₅₀ = 3.2 µg/mL
EC₅₀ = 0.1-0.13 µg/ml

Average Daily % Weight Change

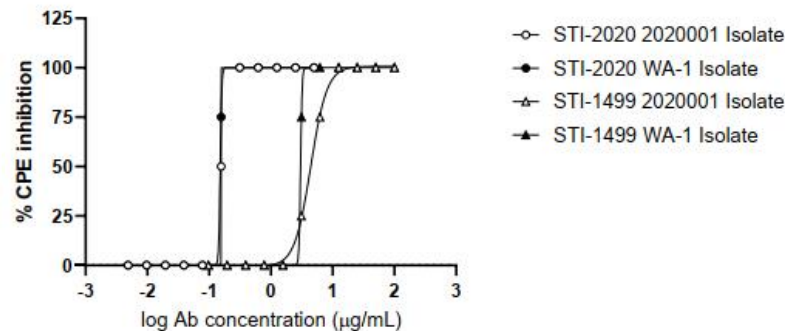


Lung Virus Titer Day 5



STI-1499 –
нейтрализующее SARS-
CoV-2 антитело,
выделенное из
библиотеки G-MAB

SARS-CoV-2 neutralization assay for potency against the USA/WA-1/2020 isolate and the 2020001 (D614G) isolate



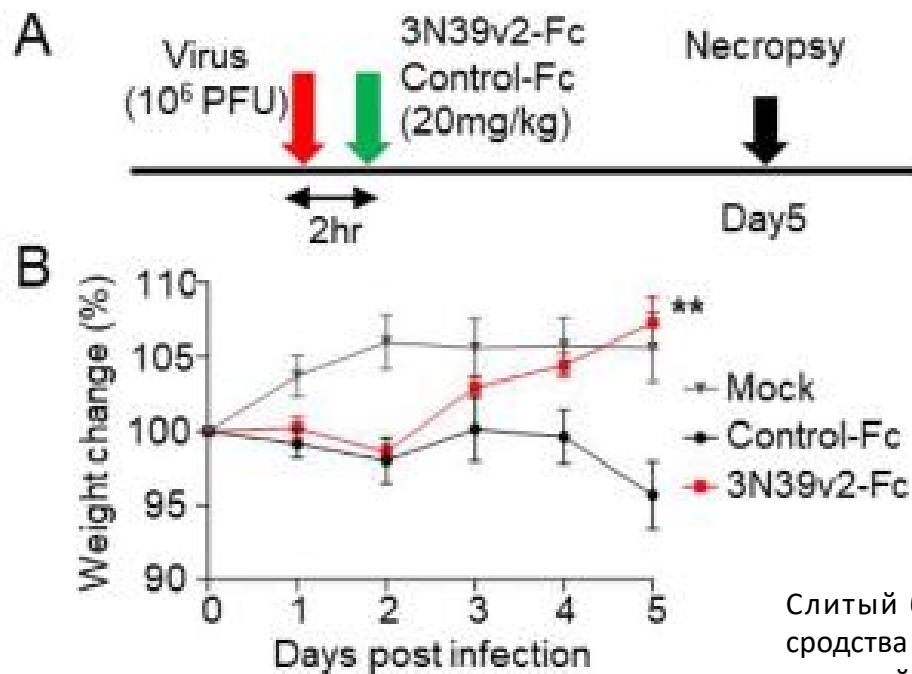


Результаты оценки эффективности «ловушек» SARS-COV-2 – 3N39v2-Fc модифицированный ACE2, слитый с IgG1-Fc человека

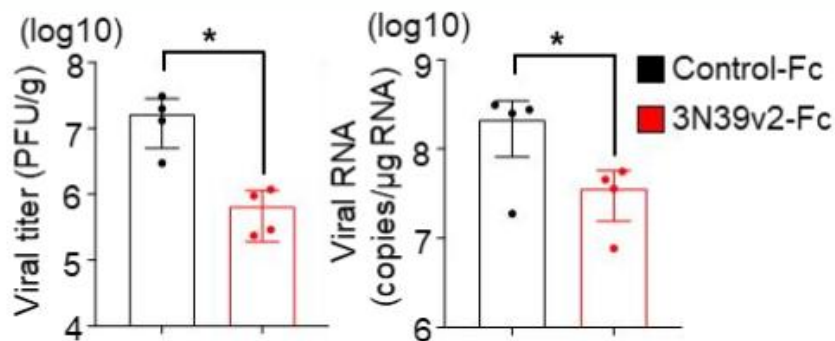
Лечение



Доза вируса 10^6 PFU $\approx 1.6 \cdot 10^6$ TCID₅₀
2 часа после инфицирования, вб
T_{1/2} = 1-2 часа
Определялся в легких через 2 часа
после введения



IC₅₀ = 0.082 ug/mL

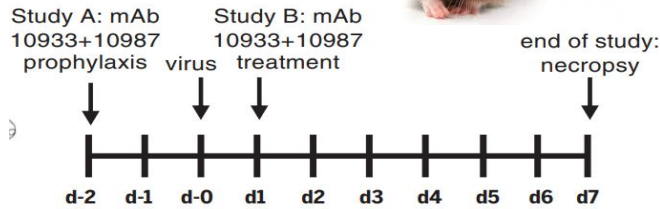


Слитый белок содержит модифицированный ACE2 для повышения сродства с направленной эволюцией в клетках 293Т. Три цикла случайных мутаций и сортировки клеток позволили достичь в 100 раз большей аффинности к RBD, чем ACE2 дикого типа. Внеклеточный домен модифицированного ACE2, слитый с IgG1-Fc человека, имел стабильную структуру и нейтрализовал SARS-CoV-2 без возникновения мутационного ускользания.



Результаты оценки эффективности «ловушек» SARS-COV-2 – нейтрализующие антитела REGN-COV2

REGN-COV2 профилактическая и лечебная схемы



Доза вируса 2.3×10^4 PFU $\approx 3.3 \times 10^4$ TCID

Препарат вводили за 2 дня до введения вируса или через 1 день после (в/б)

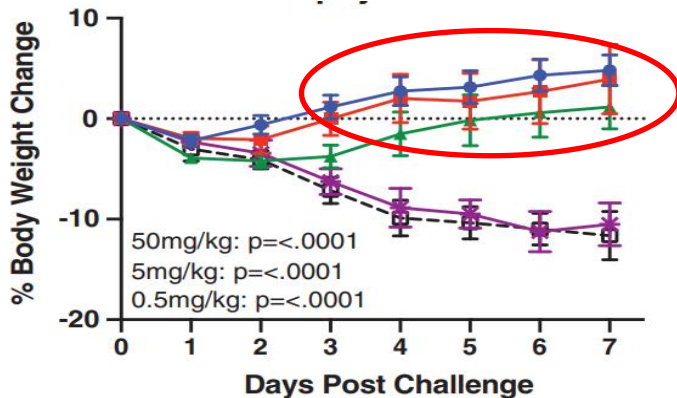
EC50 против псевдовируса (клетки Vero) ≈ 31 pM (n=23; range: 5-61 pM)

EC50 против нативного вируса (клетки Vero) ≈ 31 pM (0.005 ug/mL)

EC90 против нативного вируса (клетки Vero) ≈ 173 pM (0.028 ug/mL)

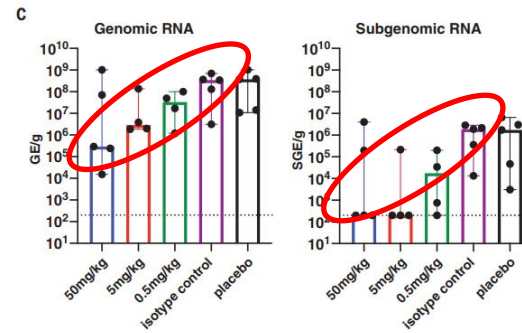
Is expected to achieve concentrations in lung tissues above the in vitro EC90 values for 28 days.

Профилактика



Isotype control does not differ from placebo

Вирусная нагрузка, 7 день



% площади пневмонии, 7 день

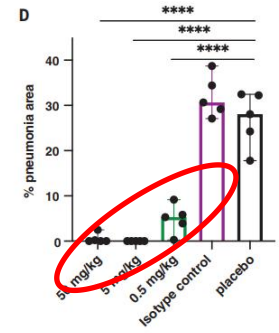


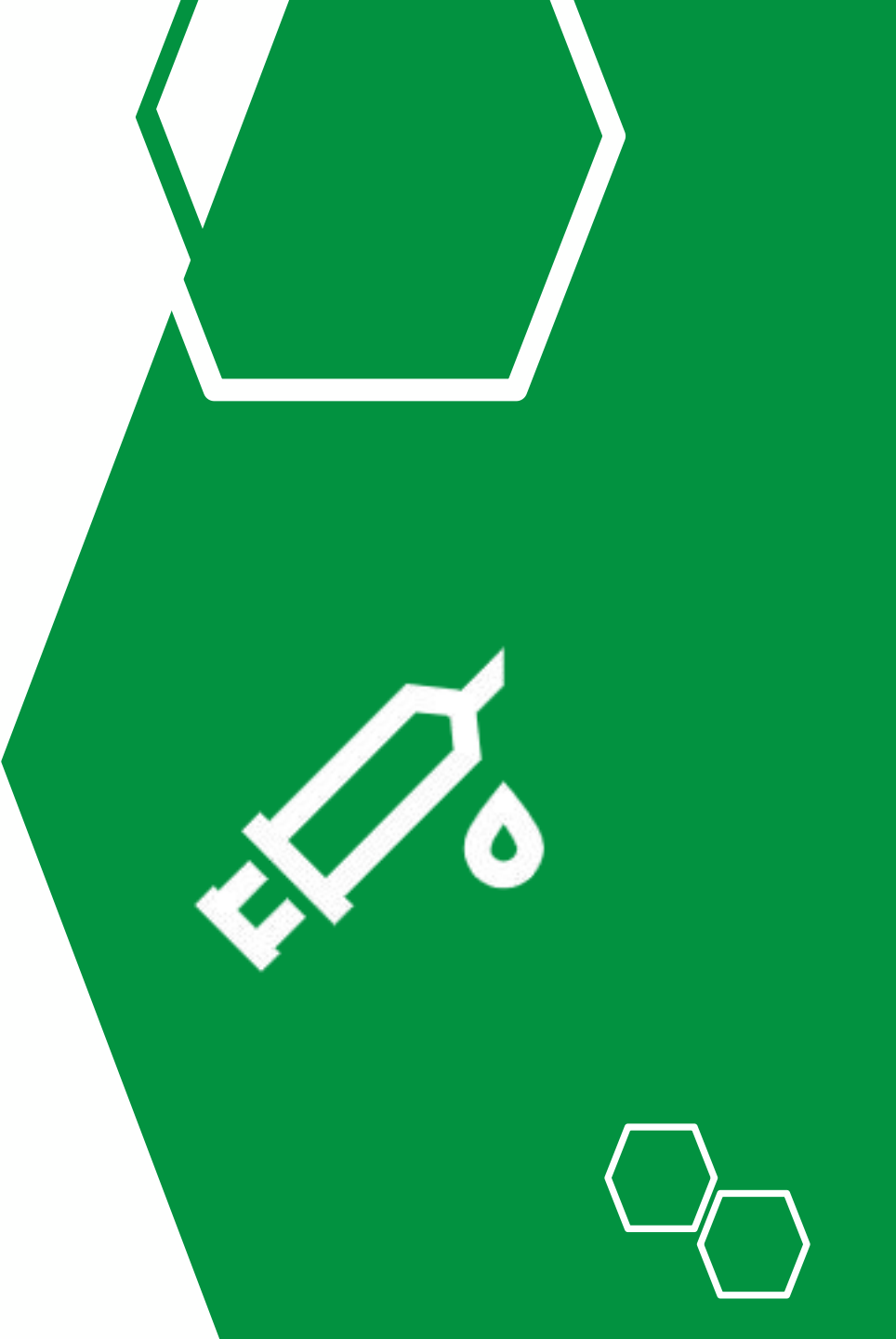
Fig. 3. Efficacy of REGN-COV2 in treatment and prophylaxis in the golden Syrian hamster model of SARS-CoV-2 infection. (A) Overview of study design. (B) Impact of REGN-COV2 on weight loss in prophylaxis and treatment groups. Error bars represent mean with error. IgG1, immunoglobulin G1. (C) Impact of REGN-COV2 prophylaxis on levels of gRNA and sgRNA in hamster lungs (7 days after infection). No statistical significance was observed between any treatment groups and placebo.

The dotted lines indicate limit of detection (LOD = 200 GE/ml for gRNA and LOD = 200 SGE/ml for sgRNA), and error bars represent median with 95% confidence intervals. (D) Impact of REGN-COV2 prophylaxis on percent area of lung exhibiting pathology typical of pneumonia (***) $p < 0.001$ indicates significant differences). Error bars represent median with 95% confidence intervals. For detailed statistical analysis, refer to tables S4 and S5.

Для терапевтической модели результаты были примерно такими же



Вакцины





Оценка эффективности вирусных вакцин - РФ

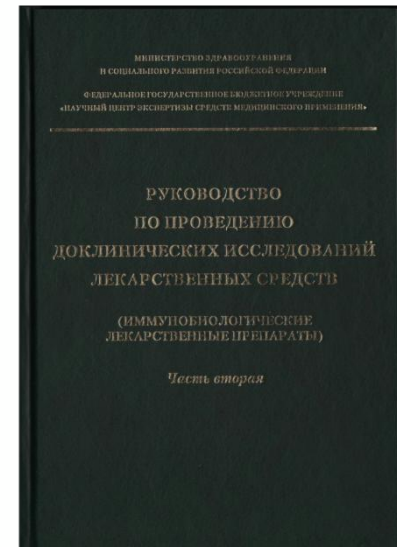
Физико-химические и молекулярно-биологические методы – оценка количества антигена, содержания вакцинного специфического белка, степень чистоты от компонентов использованного субстрата, возможность определения клеточного иммунного ответа и др. показателей, подтверждающих состав препарата и определяющих относительную активность вакцины в опытах на животных

Специфическая активность вирусных вакцин – иммунизация лабораторных животных (мышей или крыс) с последующим определением титров антител к соответствующему возбудителю в серологических или иммуногистохимических реакциях – РТГА и ИФА

В тех случаях, когда невозможно установить прямой серологической (иммунологической) корреляции между лабораторным изучением и клиническим исследованием необходимо провести **тест протективной защиты животных**, иммунизированных вакциной. Если это невозможно, иммуногенность определяют по результатам измерения иммунного ответа у иммунизированных животных с помощью серологических тестов

Протективная активность – устойчивость вакцинированных животных к специфическому инфекционному агенту, а также по уровню специфических антител в сыворотке крови иммунизированных животных.

- Для иммунизации животных должна быть определена доза и схема введения, включающая изучение кратности введения животным
- При подборе доз – избегать введения чрезмерно высоких доз, так как это приводит к гипериммунизации и нивелированию показателей защитного иммунитета. Предпочтительно – постановка теста титрования иммунизирующей дозы на достаточно большом количестве животных (от 10-20 особей на одно разведение) с последующей статистической обработкой результатов для определения 50% минимальной иммунизирующей дозы





Оценка эффективности вирусных вакцин - ВОЗ



Фармакодинамическое исследование вакцины - оценка **иммуногенности**, может также включать фармакологию адъюванта.

Следует проводить исследования по иммунизации на *in vivo* моделях, поскольку они могут предоставить ценную информацию для «доказательства концепции» в поддержку плана клинической разработки. Кроме того, данные об иммуногенности, полученные на соответствующих животных моделях, полезны для установления иммунологических характеристик продукта и могут **служить ориентиром при выборе доз, схем и путей введения** для оценки в клинических испытаниях.

Доклинические исследования иммуногенности должны оценивать соответствующий иммунный ответ, то есть **гуморальный и/или клеточный иммунный ответ**, индуцируемый у вакцинированных животных. В зависимости от индуцированного иммунного ответа такие исследования могут включать оценку частоты сероконверсии, средних геометрических титров антител или клеточно-опосредованного иммунитета у вакцинированных животных.

При необходимости могут быть проведены исследования **заражения/протективности** с помощью соответствующего инфекционного агента для подтверждения актуальности моделей на животных.

Доклинические исследования должны, по возможности, быть разработаны для оценки соответствующих иммунных ответов, включая функциональный иммунный ответ (например, нейтрализующие антитела, активность опсонофагоцитов и т. д.), приводящий к защите. Эти исследования также могут быть направлены на устранение интерференции между антигенами и/или живыми вирусами. Если вакцина состоит из более чем одного определенного антигена (например, бесклеточная коклюшная вакцина, состоящая из 3–5 белковых продуктов) следует оценивать реакцию на каждый антиген.

Первостепенной задачей при интерпретации данных, полученных в таких исследованиях, должно быть определение того, насколько *in vivo* модель отражает заболевание и иммунный ответ у людей. Модели на животных часто не позволяют предсказать иммуногенность и эффективность у человека.



Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19 FDA Guidance for Industry, JUNE 2020



Цель ДКИ вакцины-кандидата против COVID-19 - определение ее иммуногенности и безопасности в тестах *in vitro* и *in vivo*.

C. Оценка иммунного ответа в *in vivo* моделях:

- Исследования иммуногенности на *in vivo* моделях, реагирующих на выбранный антиген вакцины против COVID-19 должны проводиться для оценки иммунологических свойств вакцины и для поддержки клинических испытаний FII. Измеряемая иммуногенность должна соответствовать конструкции вакцины и ее предполагаемому механизму действия.
- Исследования должны включать оценку **гуморального, клеточного и функционального иммунного ответа** в зависимости от каждого из включенных антигенов COVID-19.
 - ❑ *Гуморальный иммунный ответ* - антиген-специфический ИФА.
 - ❑ *Клеточный иммунный ответ* - изучение CD8+ и CD4+ Т-клеток с использованием чувствительных и специфических анализов.
 - ❑ *Функциональная активность* - *in vitro* в анализах нейтрализации с использованием либо вируса дикого типа, либо псевдовируса.



ДКИ эффективности вакцин

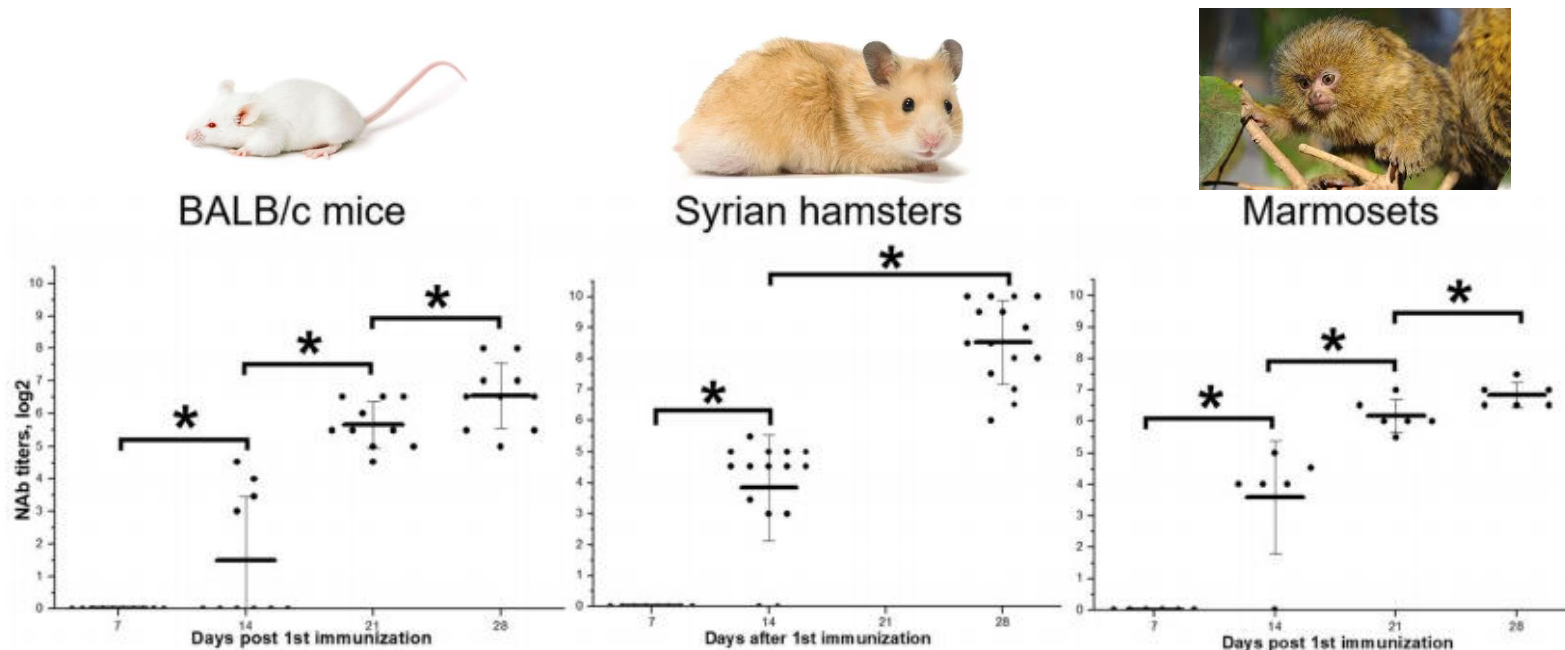


Вакцина	Исследования эффективности
<p>AstraZeneca (ChAdOx1-S [рекомбинантная]) или Vaxzevria в Великобритании - рекомбинантный дефицитный по репликации аденовирусный вектор шимпанзе, кодирующий шиповидный гликопротеин SARS-CoV-2 и содержащий $\geq 2,5 \times 10^8$ инфекционных единиц в составе установленных вспомогательных веществ*</p>	<p>Функциональная активность <i>in vitro</i> Исследование иммуногенности на мышах и свиньях Тестировании эффективности/иммуногенности на хорьках и макаках-резус зараженных SARS-CoV-2</p>
<p>Janssen (Ad26.COVS.2.S) - моновалентная, рекомбинантная, аденовирусная (не способен к репликации) векторная вакцина типа 26, кодирует шиповидный белок SARS-CoV-2 и содержит не менее 8,92 log₁₀ инфекционных единиц *</p>	<p>Функциональная активность <i>in vitro</i> Иммуногенность на мышах и новозеландских белых кроликах Тестирование эффективности/иммуногенности на сирийских золотых хомяках и макаках-резус зараженных SARS-CoV-2; риск вакциноассоциированных респираторных заболеваний считался низким на основании измерения изменения Th1 иммунного ответа, подтвержденного у мышей, кроликов и обезьян, и оценки гистопатологии легких у хомяков и обезьян.</p>
<p>мРНК (Comirnaty в США и ЕС или BNT162b2 в Великобритании) содержит 30 мкг модифицированной нуклеозидами матричной РНК (мРНК), кодирующей вирусный шиповидный гликопротеин SARS-CoV-2, который состоит из 4 липидов (липидных наночастиц LNP)), вводимый в дозе 0,3 мл в/м; 2 липида (ALC-0315 и ALC-0159)</p>	<p>Иммуногенность на мышах и крысах Тестирование эффективности/иммуногенности на макаках-резус после заражения SARS-CoV-2</p>
<p>Moderna (Spikevax в США) - одноцепочечная матричная РНК (мРНК) с 5'-кэпом, кодирует стабилизированный перед слиянием шиповидный гликопротеин SARS-CoV-2, который сформулирован в виде липидов (LNP); составляющая LNP SM-102 считалась новым вспомогательным веществом</p>	<p>Исследования функциональной активности и фармакологии <i>in vitro</i> Иммуногенность и эффективность при заражении вирусом SARS-CoV-2 на мышах, сирийских золотистых хомяках и макаках-резус</p>
<p>Nuvaxovid представляет собой полноразмерный рекомбинантный шиповидный белок SARS-CoV-2 (5 мг), разработанный с адъювантом Matrix-M (содержащий фракцию-А и фракцию-С экстракта Quillaja saponaria Molina) в составе известных вспомогательных веществ*</p>	<p>Были проведены исследования на мышах для оптимизации белковой конструкции на основе подтвержденного белка и участия адъюванта с дальнейшим изучением иммуногенности у бабуинов, а также исследования иммуногенности/эффективности у хомяков, яванских макак и макак-резус после заражения SARS-CoV-2</p>

* - Вводится в дозе 0,5 мл в/м



Титр вируснейтрализующих антител после введения вакцины КовиВак



Титры нейтрализующих антител к SARS-CoV-2 у мышей BALB/c (N = 20, кровь брали от 10 животных в каждый момент времени), сирийских хомячков (N = 15) и мармозеток (N = 6), вакцинированных КовиВак, 6 мкг/доза, двукратно с интервалом 14 дней). Среднее значение ± стандартное отклонение. *Различия статистически значимы (критерий Манна–Уитни, $p < 0,05$).

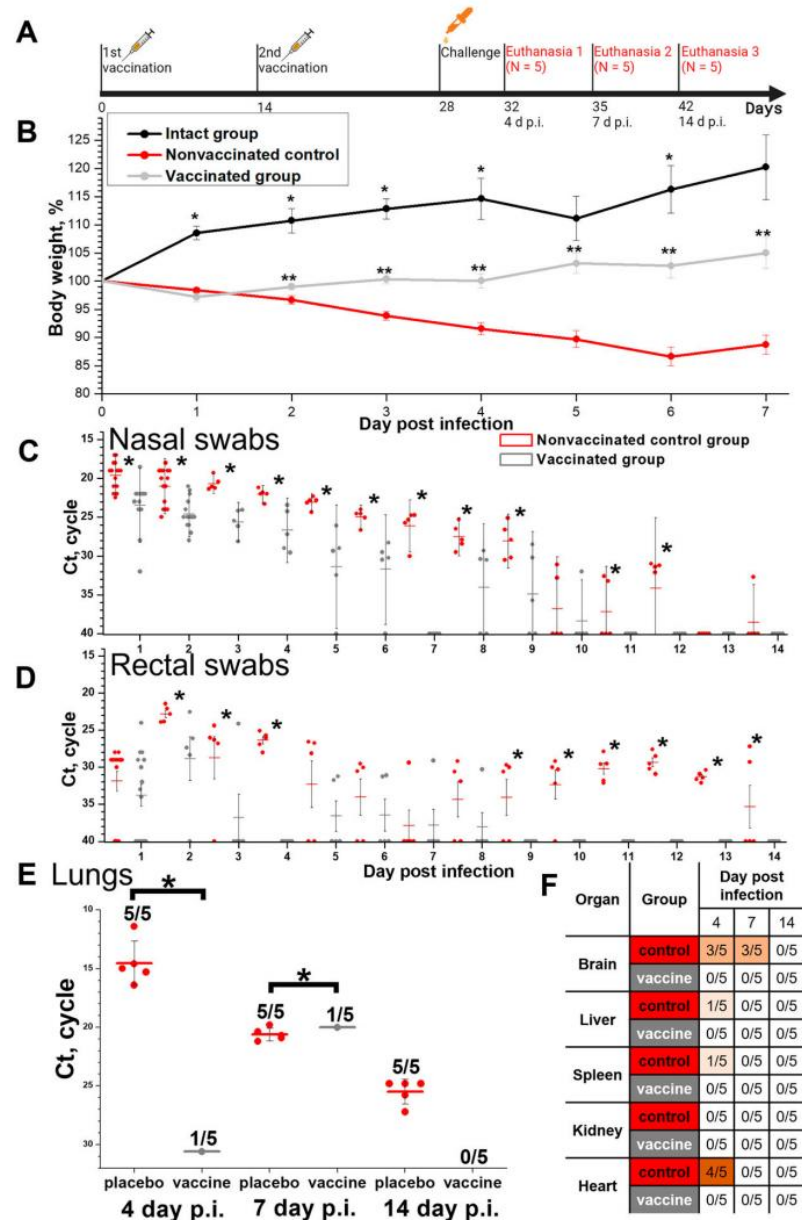




Протективность вакцины КовиВак у сирийских хомячков



N = 15, 5 животных были подвергнуты эвтаназии на 4, 7 и 14 дни (6 мкг на дозу, 2 иммунизации с интервалом 14 дней) против интраназального заражения через 14 дней после 2-й иммунизации 10⁵ TCID₅₀ штамма PIK35 SARS-CoV-2.





ДКИ вакцины AstraZeneca ChAdOx1 nCoV-19, AZD1222



Репликативно-дефицитный аденовирус шимпанзе, производящийся в HEK293A клетках, впервые данный вектор был получен в 2012 году

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040385>

Преимущество - серологическая распространенность антител против аденовируса шимпанзе у жителей UK = 0%, у жителей Гамбии = 9%

В исследовании иммуногенности (BALB/c, N=5 и CD1, N=8) ChAdOx1 nCoV-19 показал T-клеточный ответ направленный на шип полной длины (full length spike) – высокие уровни INF- γ и TNF- α и низкие уровни IL-4 и IL-10

Ранее было показано, что подобный вектор против MERS-CoV (ChAdOx1 MERS) дает иммунитет для NHP против индуцированного заражения MERS-CoV, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba8399>

Макаки резус были разделены на 3 группы (-(+)) буст через 28 дней + группа ChAdOx1 GFP, N=6), и заражены 2.6×10^6 TCID50 SARS-CoV-2 спустя 28 дней после последнего введения вакцины

- Специфические антитела начали детектироваться на 14 день после вакцинации, а в день заражения титр IgG достигал 400-6400 (без буста) и 400-19200 (с бустом), IgM обнаруживался у всех животных из группы с бустом и у 2 из 6 животных из группы 1 введения
- После вакцинации у всех животных наблюдались низкие уровни Th1 (IFN- γ и IL-2) или Th2 (IL-4, IL-5 и IL-13) цитокинов, но статистически выделялась только группа с единственным введением
- Через 7 дней животных подвергали эвтаназии, проводили иммуногистохимический анализ, ни у одного животного не было зарегистрировано отклонений в тканях легких или антигенов SARS-CoV-2, но были gRNA (по 2 животных из каждой группы) и sgRNA (у 1 животного из группы 1 введения)
- У животных из группы контроля была зарегистрирована пневмония (3/6), вирусные антигены в пневмоцитах (5/6), gRNA (все), sgRNA (5/6) в тканях легких, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040385>



**Благодарю за
внимание!**

Shipaeva@rpharm.ru