

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Сергеева Артемия Александровича

«Модельные биосистемы для оценки защитной эффективности
препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) у человека»,
представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук
по специальности 03.02.02 – вирусология

Диссертация А.А. Сергеева посвящена разработке модельных биосистем на основе выбранных вида животных и штаммов вирусов для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) у человека.

Актуальность темы данной диссертации не вызывает сомнений. Прошло уже около 60 и 20 лет с тех пор как были открыты возбудитель оспы обезьян (ВОО) и высокопатогенный вирус гриппа птиц (в/пат ВГП) A/H5N1 соответственно, однако интерес к этим патогенам продолжает сохраняться и по настоящее время. Прежде всего, это связано с высокой вирулентностью данных вирусов в отношении человека и существующей угрозой их распространения по всему миру. Поэтому разработка средств лечения и профилактики заболеваний, вызванных этими патогенами, является важнейшей проблемой, с которой тесным образом связана задача испытания эффективности исследуемых препаратов в экспериментах с использованием модельных биосистем. Известные модельные виды животных для этих инфекций имеют те или иные недостатки, касающиеся возможности их воспроизводства в неволе, дороговизны, удобства и адекватности их применения при моделировании оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) у людей. А используемые в модельных биосистемах штаммы в/пат ВГП A/H5N1 не являются актуальными для России, так как они были выделены на территории зарубежных стран. В связи с этим злободневной является разработка модельных биосистем на основе актуальных высоковирулентных для человека штаммов вирусов, а также доступных и адекватных при воспроизведении болезни у людей видов животных для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1).

Для достижения данной цели автору необходимо было решить следующие задачи:

- разработать стратегию поиска модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1);
- провести экспериментальную и прогнозную оценку чувствительности человека и подопытных животных в отношении патогенных ортопоксвирусов и в/пат ВГП А/Н5N1 и выбрать для кандидатных модельных биосистем применительно к оспе обезьян и гриппу птиц (А/Н5N1) соответствующие штаммы и виды модельных животных для дальнейшего изучения;
- изучить динамику диссеминации ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 в организме кандидатных модельных видов животных;
- исследовать патоморфологические изменения, включая выявление клеток-мишеней, в организме кандидатных модельных видов животных, инфицированных ВОО или в/пат ВГП А/Н5N1;
- оценить возможность использования кандидатных модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1);
- провести испытания и определить пределы практического применения модельных биосистем для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1).

Диссертационная работа изложена на 332 страницах машинописного текста, построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение (3 раздела), заключение с выводами, список сокращений и условных обозначений, список литературы и список иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 39 таблицами и 46 рисунками. Список литературы содержит 464 источника, в том числе 385 зарубежных статей.

Раздел I «Обзор литературы» дает достаточно полное представление о разрабатываемых и уже разработанных биосистемах, которые используются для оценки защитной эффективности препаратов от инфекций человека, вызванных ВОС и в/пат ВГП А/Н5N1. В нем представлена информация: об истории выделения этих патогенов; о чувствительности к ним человека, животных и их первичных клеточных культур; о распространении возбудителей этих заболеваний в организме человека и

животных; о патологических изменениях у человека и животных, инфицированных этими вирусами; об использовании модельных видов животных для оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) при изучении эффективности противовирусных препаратов; о подходах к созданию модельных биосистем для изучения защитной эффективности противооспенных и противогриппозных препаратов у человека. В конце данного обзора сделано заключение, обосновывающее необходимость проведения исследований в направлении разработки модельных биосистем для оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1).

Раздел 2 «Материалы и методы» подробно описывает все использованные автором методы исследований, включая материалы. Работа была выполнена с использованием оригинальной разработанной автором методологии, основанной на оценке показателей инфицирования подопытных животных вирусом при заражении через респираторный тракт в сравнении с таковыми у человека или известных модельных видов животных. При этом, кроме традиционных методов исследований (вирусологические, культуральные, серологические, гистологические, электронно-микроскопические и молекулярно-генетические), соискатель использовал при проведении экспериментов с в/п ВГП А/H5N1 и аэрозольный способ инфицирования подопытных животных (кур и мышей). Важно также отметить, что все результаты исследований подвергались тщательной статистической обработке с использованием стандартных методов (Закс, 1976) и пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc. 1984-2001) (Халафян, 2010) с определением достоверности отличий на 5 %-м уровне значимости.

В разделе 3 представлена разработанная соискателем стратегия поиска модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от инфекций человека, вызванных вирусами оспы обезьян и гриппа птиц A/H5N1. Данная стратегия основана на выборе актуальных высоковирулентных для человека штаммов вирусов, а также доступных и адекватных при воспроизведении болезни у людей видов животных.

В разделе 4 приведена экспериментальная информация, касающаяся поиска модельных видов животных для оспы обезьян по изучению защитной эффективности препаратов для человека. При этом последовательно изложена тактика исследований:

экспериментальная и прогнозная оценка чувствительности людей и подопытных животных к патогенным ортопоксвирусам; распространение возбудителя оспы обезьян в организме степных сурков и аутбредных мышей ICR; патоморфологические изменения у степных сурков и аутбредных мышей ICR, зараженных возбудителем оспы обезьян; испытание модельных биосистем для оспы обезьян на основе степного сурка и аутбредной мыши ICR.

В разделе 5 приведена экспериментальная информация, касающаяся поиска модельной биосистемы для изучения защитной эффективности препаратов от гриппа птиц (A/H5N1) у человека. При этом по аналогичной логике, что и в разделе 4 изложен экспериментальный материал: чувствительность человека и подопытных животных к высокопатогенному вирусу гриппа птиц A/H5N1; Диссеминация высокопатогенного вируса гриппа птиц A/H5N1 в организме кур генетической линии Род-Айланд и аутбредных мышей ICR; патоморфологические изменения у аутбредных мышей ICR, инфицированных высокопатогенным вирусом гриппа птиц A/H5N1; Испытание модельной биосистемы для гриппа птиц A/H5N1 на основе аутбредной мыши ICR.

Обращает на себя внимание то, что в конце разделов 4 и 5 дана информация о пределах практического применения разработанных модельных биосистем «степной сурок - штамм V79-1-005 BOO», «аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 BOO» и «аутбредная мышь ICR –штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП А/H5N1».

В разделе «Заключение» представлены выводы в соответствии с результатами выполненных исследований, а также рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Все задачи, поставленные в рамках данной работы, были полностью решены и успешно достигнута поставленная диссертантом цель: разработаны три модельные биосистемы для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) у человека («степной сурок – штамм V79-1-005 BOO», «аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 BOO» и «аутбредная мышь ICR - штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП А/H5N1»). Уверенность в справедливости сделанных выводов вселяет тот факт, что все результаты исследований подвергались тщательной статистической обработке.

Научная новизна диссертационного исследования Сергеева А.А. определяется тем, что автором разработано целостное представление о механизмах патогенеза оспы обезьян у аутбредных мышей популяции ICR и степных сурков, а также гриппа птиц (A/H5N1) у аутбредных мышей популяции ICR. Результаты этих исследований продемонстрировали сходство патогенеза этих инфекций у исследованных животных и человека.

Практическая и теоретическая значимость работы подтверждается тремя созданными соискателем методическими указаниями федерального уровня и тремя методическими рекомендациями учрежденческого уровня, а также тем, что были использованы, используются и могут быть использованы в настоящее время следующие разработки автора:

- методология поиска модельных видов животных для вирусных инфекций;
- модельные биосистемы «аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 BOO», «степной сурок – штамм V79-1-005 BOO» и «аутбредная мышь ICR – штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП A/H5N1»;
- прогнозные величины ID_{50} вируса натуральной оспы - ВНО (штамм Ind-3a) для аутбредных мышей ICR, определенные на основе экспериментов (in vitro);
- прогнозные величины ID_{50} ВНО, BOO и в/пат ВГП A/H5N1 для людей, определенные на основе экспериментов (in vitro);
- инструкция № 1/02 ГНЦ ВБ «Вектор» по работе с мышами, сурками, первичными культурами клеток человека и животных с применением BOO и ВНО.

Результаты проведенного изучения были широко представлены для научной общественности не только в российских научных изданиях (20 статей), рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований, но и в зарубежных высокорейтинговых журналах J. General Virology, Transboundary and Emerging Diseases, Aerosol Science и др. (8 статей), в 2 монографиях и 7 патентах РФ на изобретения, а также на 19 российских и международных научных форумах.

Несмотря на то, что в данной диссертационной работе приведена обширная и достаточно убедительная информация по тематике, связанной с разработкой модельных биосистем для оценки эффективности препаратов от оспы обезьян и

гриппа птиц (А/Н5N1), тем не менее, хотелось бы получить от соискателя ответы по 2 вопросам.

1) Если у мышей вирус оспы обезьян не вызывает клинически наблюдаемого заболевания, можно ли говорить об оценке защитной эффективности препаратов с использованием данной модельной биосистемы?

2) При интраназальном заражении мышей ВГП А/Н5N1 процент их гибели зависел от вводимой дозы вируса, тогда как такого эффекта не наблюдалось у сурков при заражении тем же способом ВОО. Чем объясняется такое различие?

Внушительный объем экспериментальных и теоретических исследований с использованием традиционных методов, а также аэрозольного, в сочетании с тщательной статистической обработкой результатов, существенные научная новизна, практическая и теоретическая значимость, выводы, а также большое количество публикаций в отечественных и зарубежных изданиях, включая патенты РФ на изобретения и монографии, - все это создает очень хорошее впечатление о данной диссертационной работе.

Основной материал работы достаточно полно представлен в автореферате, а выводы диссертации соответствуют выводам, сделанным в автореферате. Важно также отметить, что оба этих документа подготовлены строго в соответствии с национальным стандартом РФ (ГОСТ Р 7.0.11-2011).

Таким образом, материалы докторской диссертации Сергеева Артемия Александровича «Модельные биосистемы для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека», представляют собой законченный научно-квалификационный труд, в котором на основании выполненных автором исследований изложены новые научно обоснованные технические, технологические или иные решения, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие страны, связанный с возможностью использования разработанных модельных биосистем для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека.

Материалы докторской диссертации по актуальности изучаемой проблемы, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикаций материалов в

научных печатных изданиях соответствуют требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842) с изменениями постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положении ученых степеней», а автор, несомненно, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Профессор кафедры инфекционных
болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России, д.м.н.

 Чуйкова К.И.



Данные об авторе отзыва: Кира Игоревна Чуйкова – доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, адрес: 634050, Томск, Московский тракт, 2, телефон: +7 (3822) 41-98-28, адрес электронной почты: kirainf@sibmail.com