

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Сергеева Артемия Александровича

«МОДЕЛЬНЫЕ БИОСИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ

ЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ

ОТ ОСПЫ ОБЕЗЬЯН И ГРИППА ПТИЦ (А/Н5N1) У ЧЕЛОВЕКА»,

представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук

по специальности 03.02.02 – вирусология

По настоящее время в природе продолжают сохранять свою активность два опасных для человека зооантропонозных патогена - вирус оспы обезьян (ВОО), принадлежащий к тому же роду (Orthoroxvirus), что и вирус натуральной оспы (ВНО), а также высокопатогенный вирус гриппа птиц (в/пат ВГП) А/Н5N1. Учитывая низкий уровень иммунитета или его отсутствие у людей к гриппу птиц (А/Н5N1) и оспе обезьян (вакцинация от первого заболевания не проводится, а от натуральной оспы, которая защищает и от оспы обезьян, была прекращена с 1980 г.), эти этиологические агенты могут вызвать у человека заболевания с серьезными последствиями (вплоть до летального исхода).

Разработка средств лечения и профилактики заболеваний, вызванных этими патогенами, является важнейшей проблемой, с которой тесным образом связана задача испытания эффективности исследуемых препаратов в экспериментах *in vivo* 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 (А/Н5N1) у людей. А используемые в модельных биосистемах штаммы в/пат ВГП А/Н5N1 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 (А/Н5N1), что явилось целью исследований в рамках диссертационной работы А.А. Сергеева.

Автор поставил перед собой задачи, связанные с разработкой стратегии поиска модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1); с проведением экспериментальной прогнозной оценки

чувствительности человека и подопытных животных в отношении высокопатогенных ортопоксвирусов и в/пат ВГП А/Н5N1 и выбора для кандидатных модельных биосистем применительно к оспе обезьян и гриппу птиц (А/Н5N1) соответствующих штаммов и видов модельных животных для дальнейшего изучения; с изучением динамик диссеминации ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 в организме кандидатных модельных видов животных; с исследованием патоморфологических изменений, включая выявление клеток-мишеней, в организме кандидатных модельных видов животных, инфицированных ВОО или в/пат ВГП А/Н5N1; с оценкой возможности использования кандидатных модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1); с проведением испытания и определением пределов практического применения модельных биосистем для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1).

Для решения данных задач и достижения поставленной цели автором был проведен большой объем экспериментальных и теоретических исследований. При этом большое уважение вызывает то, что все эксперименты с живыми ВОО и ВНО были проведены на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) в лаборатории с максимальным уровнем биологической защиты (BSL-4) с использованием защитных пневмокостюмов, а с живым в/пат ВГП А/Н5N1 - в лаборатории с высоким уровнем биологической защиты (BSL-3). Итогом проведенных исследований явилась данная диссертационная работа и ее автореферат, которые были подготовлены автором в полном соответствии с национальным стандартом РФ (ГОСТ Р 7.0.11-2011).

Диссертация представлена на 332 страницах машинописного текста, включает в себя требуемые ГОСТ Р 7.0.11-2011 разделы: «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». При этом раздел «Введение» содержит все необходимые подразделы: «Актуальность темы исследования», «Степень разработанности», «Цели и задачи», «Научная новизна», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Методология и методы исследования», «Положения, выносимые на защиту», «Степень достоверности и апробация результатов». Работа иллюстрирована 39 таблицами и 46 рисунками, включая цветные. Список литературы содержит 464 источника, в том числе 385 зарубежных статей.

В разделе 1 (Обзор литературы) приводится подробная информация, касающаяся разрабатываемых в мире и уже разработанных биосистем, которые используются для изучения защитной активности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1). Здесь

представлены сведения об истории выделения возбудителей этих заболеваний, о чувствительности к ним человека, животных и их первичных клеточных культур, о распространении данных патогенов в организме человека и животных, о патологических изменениях у человека и животных, интраназально зараженных этими вирусами, об использовании модельных видов животных для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) при изучении эффективности противовирусных препаратов, о подходах к созданию модельных биосистем для оценки протективного действия противооспенных и противогриппозных препаратов у человека. Данный обзор был завершен заключением, в которой приведена обобщающая информация, нацеливающая на необходимость проведения исследований по созданию модельных биосистем для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1).

В разделе 2 (Материалы и методы) досконально прописаны все примененные автором методы исследований, включая оборудование и материалы. Работа была сделана с использованием созданной автором методологии, в основе которой лежала оценка показателей заражения подопытных животных вирусным патогеном при инфицировании через респираторный тракт в сравнении с таковыми у человека или известных модельных видов животных. При этом автор использовал разнообразные методы исследований: вирусологические, серологические, культуральные, электронно-микроскопические, гистологические и молекулярно-генетические. Важно также отметить, эксперименты с в/пат ВГП А/Н5N1 на мышах и курах проводились с применением аэрозольного способа инфицирования. Причем все результаты исследований были подвергнуты статистической обработке широко распространенными методами, включая пакет компьютерных программ «Statistica 6.0» с определением достоверности с 95%-й вероятностью.

Раздел 3 (Стратегия поиска модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от инфекций человека, вызванных вирусами оспы обезьян и гриппа птиц А/Н5N1) содержит убедительно представленную соответствующую информацию. Созданная автором стратегия базируется на подборе актуальных высоковирулентных для людей штаммов вирусов, а также доступных и адекватных при воспроизведении болезни у человека видов подопытных животных.

С учетом стратегии, приведенной в разделе 3, раздел 4 (Поиск модельных видов животных для оспы обезьян по изучению защитной эффективности препаратов для человека) представлен экспериментальной и прогнозной информацией по чувствительности людей и подопытных животных к высокопатогенным ортопоксвирусам, а также данные по диссеминации ВОО в организме аутбредных мышей ICR и степных сурков, по патоморфологическим изменениям у этих видов животных, по испытанию модельных

биосистем для оспы обезьян, созданных на основе аутбредной мыши ICR и степного сурка, (степной сурок - штамм V79-1-005 ВОО и аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 ВОО) и по оценке пределов их практического применения.

С учетом стратегии, приведенной в разделе 3, раздел 5 (Поиск модельной биосистемы для изучения защитной эффективности препаратов от гриппа птиц (А/Н5N1) у человека) содержит результаты экспериментов, касающихся оценки чувствительности человека и подопытных животных к в/пат ВГП А/Н5N1, изучения распространения этого патогена в организме кур генетической линии Род-Айланд и аутбредных мышей ICR, патоморфологических изменений у аутбредных мышей ICR, интраназально зараженных в/пат ВГП А/Н5N1, а также испытания модельной биосистемы для гриппа птиц А/Н5N1 на основе этого вида животных (аутбредная мышь ICR – штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП А/Н5N1) и оценки ее пределов практического применения.

В разделе «Заключение» автор приводит в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011, кроме большого массива основных выводов по результатам выполненных исследований, также рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Экспериментальные данные, полученные автором, представлены в 28 статьях, опубликованных в отечественных и зарубежных рецензируемых периодических изданиях, входящих в перечень ВАК, 2 монографиях и 7 патентах РФ на изобретения.

Следует отметить, что все приведенные автором задачи были полностью решены, а также успешно достигнута поставленная цель. При этом были созданы следующие объекты интеллектуальной собственности: методология поиска модельных видов животных для вирусных инфекций; три модельные биосистемы для оценки протективного действия препаратов против оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека (аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 ВОО, степной сурок – штамм V79-1-005 ВОО и аутбредная мышь ICR - штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП А/Н5N1), включая методические рекомендации по их применению (МР 4.2.001-16, МР 4.2.002-16, МР 4.2.004-16 ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора); прогнозная величина 50 %-й инфицирующей дозы (ИД₅₀) ВНО (штамм Ind-3a) для аутбредных мышей ICR, определенная на основе экспериментов *in vitro*; прогнозные величины ИД₅₀ ВНО, ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 для людей, определенные на основе экспериментов *in vitro*; схемы патогенеза оспы обезьян у интраназально зараженных аутбредных мышей ICR и степных сурков, а также гриппа птиц (А/Н5N1) у интраназально зараженных аутбредных мышей ICR; методические указания Роспотребнадзора по подготовки проб органов и тканей от животных, инфицированных возбудителями особо

опасных инфекций, для проведения вирусологических и патоморфологических исследований (МУ 1.3.3103-13, №01/5963-9-23 от 01.05.2009 г. и №01/7161-9-34 от 24.05.2009 г.).

Все эти объекты интеллектуальной собственности уже нашли свое практическое и теоретическое применение не только в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, но и в других организациях, проводящих исследования с возбудителями особо опасных инфекций.

Научная новизна представленных результатов подтверждена 7 патентами РФ на изобретения.

В диссертационной работе Сергеева А.А. приведен большой объем экспериментальной информации, доказывающий возможность использования мышей ICR и степных сурков в качестве модельных животных для оценки протективной активности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1). При этом автор сделал акцент на применение мышей раннего возраста (10-22-суточных). В то же время известно, что такие молодые животные этого вида имеют несовершенную иммунную систему и, скорее всего, не могут быть использованы для изучения эффективности вакцинных препаратов. В связи с этим возникает следующий вопрос к соискателю.

Есть ли возможность усовершенствования модельных биосистем «аутбредная мышь ICR – штамм V79-1-005 ВОО» и «аутбредная мышь ICR - штамм A/Chicken/Kurgan/05/2005 в/пат ВГП А/Н5N1» с точки зрения их использования для оценки защитного действия вакцин от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1)?

При прочтении данной диссертационной работы остается прекрасное впечатление о ней не только из-за огромного объема проведенных экспериментальных и теоретических исследований, но и из-за использования при этом возбудителей особо опасных инфекций.

Наиболее важный экспериментальный и теоретический материал, приведенный в диссертации, достаточно полно отражен в автореферате, включая полное соответствие выводов в этих двух документах.

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. 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 о присуждении ученых степеней», а автор, несомненно, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора медицинских наук.

Официальный оппонент, профессор
кафедры пропедевтики детских болезней
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Новосибирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации –
ФГБОУ ВО НГМУ МЗ РФ
(630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52),
доктор медицинских наук, доцент
(plm-ngmu@mail.ru)



Л.М. Панасенко

Подпись Л.М. Панасенко заверяю:
Ученый секретарь ФГБОУ ВО НГМУ МЗ РФ,
доктор медицинских наук, профессор



М.Ф. Осипенко

19.11.2016 г.

