

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
Государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский
институт вакцин и сывороток им. И.И.
Мечникова», доктор биологических наук,
профессор, академик РАН

 Зверев В.В.
« 28 » октября 2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» о научно-практической значимости **диссертации Сергеева Артемия Александровича**
«Модельные биосистемы для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека»,
представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Последние годы отмечены настоящим бумом, наблюдаемым в разработке препаратов против вирусных инфекций. Если прошлый век назывался веком антибиотиков, то настоящий век по праву можно назвать веком противовирусных препаратов. Анализ терапевтических направлений новых лекарственных средств показал, что исследования направленные на создание новых лекарственных средств для лечения различных инфекционных болезней занимают второе место после онкологических препаратов и составляют 14%, от всех разрабатываемых препаратов. К наиболее впечатляющим успехам химиотерапии вирусных инфекций безусловно можно отнести разработку комбинированной терапии ВИЧ инфекции, превратившей ее из смертельной болезни в хроническую при условии постоянного приема препаратов. Другим достижением является открытие и внедрение в практику этиотропной терапии против гепатита С, результатом которой является элиминация вируса в организме. Процесс создания (исследования и разработки (R&D – Research and Development) любых препаратов, включая противовирусные, представляет собой очень сложный, длительный и дорогостоящий процесс, включающий в себя ряд обязательных стадий. Важнейшая из них - подтверждение фармакологической активности препарата, которая для противовирусного препарата является его эффективностью, на адекватной животной модели инфекции, что считается одним из определяющих моментов в создании препарата, позволяющих принять решение о его дальнейшей разработке. Данные об эффективности в отношении инфекции *in vivo* - необходимая составная

часть для продолжения доклинических исследований и получения разрешения на клинические испытания препарата. В связи с вышесказанным диссертационная работа Сергеева А.А., посвященная созданию модельных биосистем на базе подобранных видов модельных животных и штаммов вируса оспы обезьян (ВОО) и высокопатогенного вируса гриппа птиц А/Н5N1 (в/пат ВГП А/Н5N1) по изучению защитной активности препаратов от соответствующих заболеваний у человека, несомненна и актуальна.

С другой стороны актуальность проведенных исследований определяется интересом к возбудителям особо опасных инфекций, вызванных ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1, который продолжает сохраняться из-за: высокой патогенности этих вирусов для человека (летальность среди людей достигала 60 и 17 % соответственно); низкого уровня иммунитета или его отсутствия 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 более 30 лет тому назад; продолжающихся эпидемических вспышек гриппа птиц (А/Н5N1) и оспы обезьян; отсутствия исчерпывающей информации о резервуарах ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 в природе; существующей возможности распространения ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 по всему миру и выраженной генетической изменчивости особенно последнего, которая в любой момент может существенно увеличить контагиозность вызываемого им заболевания среди людей, приведя к пандемии.

Тем не менее, по настоящее время отсутствуют или имеет ряд ограничений спектр разрешенных к применению эффективных лечебно-профилактических химиопрепаратов против оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1), а также вакцин против последнего. При этом испытания протективных свойств данных средств на начальных этапах (научно-исследовательская работа и доклинические исследования) должны проводиться в экспериментах *in vivo* с использованием модельных биосистем, включающих в себя актуальные вирулентные для людей штаммы ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1, а также доступные виды животных, воспроизводящие соответствующий инфекционный процесс у человека. Регулярное появление новых штаммов этих вирусов во время вспышек заболеваний среди людей и животных делает актуальной проблему совершенствования таких модельных биосистем.

Для достижения данной цели автору необходимо было последовательно решить задачи, связанные с разработкой стратегии поиска модельных биосистем для изучения протективной эффективности препаратов против оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1), проведением экспериментальной и прогнозной оценки чувствительности подопытных животных и человека в отношении патогенных ортопоксвирусов и в/пат ВГП А/Н5N1 и подбором для соответствующих модельных биосистем штаммов и видов животных для дальнейшего изучения, изучением динамик диссеминации ВОО и в/пат ВГП А/Н5N1 в органах и тканях этих видов животных, исследованием патоморфологических изменений, включая выявление клеток-мишеней, оценкой возможности использования данных биосистем для изучения

защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1), проведением испытаний и определением пределов практического применения таких модельных биосистем.

В первой главе «Обзор литературы» отражено достаточно полное представление о создаваемых и уже созданных биосистемах, которые применяются для оценки защитной активности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека. В ней приведены сведения, касающиеся истории выделения возбудителей этих заболеваний, чувствительности к ним животных, человека и их первичных клеточных культур, диссеминации данных патогенов по органам и тканям животных и человека, патоморфологических изменений в них, использования известных модельных биосистем при изучении эффективности противовирусных препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека, подходов к разработке модельных биосистем для оценки защитной эффективности препаратов для человека. В заключении обзора литературы подведен итог, нацеливающий диссертанта на необходимость проведения изысканий в направлении разработки модельных биосистем для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1).

Во второй главе «Материалы и методы» подробно представлены использованные автором материалы, оборудование и методы исследований. При этом, кроме обычных методов (вирусологические, иммунологические, культуральные, гистологические, молекулярно-генетические и электронно-микроскопические), соискатель использовал и аэрозольный способ заражения подопытных животных (мышей и кур) при проведении экспериментов с в/пат ВГП А/Н5N1. Крайне важно то, что все результаты исследований, приведенные в данной диссертации, подвергались серьезной статистической обработке с применением стандартных методов (Закс, 1976) и пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc. 1984-2001) (Халафян, 2010) с определением достоверности отличий с 95%-й вероятностью.

В третьей главе приведена созданная автором стратегия поиска модельных биосистем для изучения защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц А/Н5N1 у человека. Данная стратегия базируется на выборе доступных и адекватных видов животных, воспроизводящих инфекционные заболевания у людей, и актуальных высококовирулентных для человека штаммов соответствующих вирусов.

В четвертой и пятой главах представлена экспериментальная и прогнозная информация, в основном относящаяся к поиску модельных видов животных для оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) с целью изучению защитной активности препаратов для человека. Причем на начальном этапе соискатель провел исследования, связанные с экспериментальной и прогнозной оценкой чувствительности людей и подопытных животных к патогенным ортопоксвирусам и в/пат ВГП А/Н5N1. Затем, выбрав наиболее чувствительные виды животных (аутбредная мышь ICR и степной сурок) к этим вирусам, автор изучил диссеминацию возбудителей оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) по их органам и тканям, а также патоморфологические

изменения в них. Продемонстрировав сходство показателей взаимоотношения с вирусом выбранных видов животных в рамках взятых критериев (глава 3) с таковыми у людей и известных видов модельных животных, соискатель провел успешные испытания 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/Н5N1». Причем в конце каждой из этих глав приведена информация о пределах практического применения разработанных модельных биосистем.

В заключение диссертации приведены выводы, сделанные в соответствии с полученными результатами, а также рекомендации и перспективы дальнейшей разработки данного направления исследований.

Диссертация представлена на 332 страницах машинописного текста и подготовлена строго в соответствии с национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ Р 7.0.11-2011). Данная работа включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение (три главы), заключение с выводами, список сокращений и условных обозначений, список литературы и список иллюстративного материала. Работа содержит 39 таблиц и 46 рисунков. Список литературы включает в себя 464 источника, в том числе 385 зарубежных.

Все задачи, взятые соискателем в рамках данной диссертации, были решены в полном объеме, а поставленная цель – успешно достигнута. Были созданы 3 модельные биосистемы для изучения защитной активности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека: «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 А/Н5N1».

Существенная научная новизна полученных результатов в рамках диссертационной работы Сергеева А.А. доказывается не только большим массивом впервые представленных экспериментальных и прогнозных данных, но и патентами Российской Федерации на изобретения. При этом была определена чувствительность при интраназальном заражении аутбредных мышей ICR и степных сурков к BOO и в/пат ВГП А/Н5N1 по ID₅₀, оцененной по наличию соответственно инфекционного процесса в легких или внешней клинической картины оспоподобного и гриппоподобного заболеваний. На основе данных по чувствительности первичных клеток-мишеней животных определены прогнозные значения ID₅₀ BOO для сурков и мышей, а также ВНО (штамм Ind-3a) для аутбредных мышей ICR. В опытах *in vitro* с применением первичных моноцитов-макрофагов крови и клеток легких людей оценены прогнозные значения ID₅₀ ВНО, BOO и в/пат ВГП А/Н5N1 в отношении человека. Представлен патогенез оспы обезьян и гриппа птиц А/Н5N1 у и/н инфицированных степных сурков и аутбредных мышей ICR с учетом динамики накопления патогенов у этих животных, выявленных первичных и вторичных органов-мишеней, патологических изменений в них и идентифицированных типов клеток-мишеней. С использованием 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/Н5N1»), представлены данные по оценке противооспенной и противогриппозной активности некоторых известных и разрабатываемых препаратов.

Большую практическую и научную значимость исследований показывают созданные соискателем научные продукты:

1) документация (инструктивно-методическая), имеющая федеральный уровень и уровень организации (МУ 1.3.3103-13 Роспотребнадзора; временные МУ от 01.05.2009 г. №01/5963-9-23 Роспотребнадзора; временные МУ от 24.05.2009 г. №01/7161-9-34 Роспотребнадзора; инструкция ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» по организации и проведению работ с вирусами натуральной оспы и оспы обезьян в корпусе №6; МР 4.2.001-16, МР 4.2.002-16, МР 4.2.004-16 ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»);

2) методология поиска модельных видов животных для вирусных инфекций;

3) три модельные биосистемы: «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/Н5N1»;

4) прогнозные величины ID_{50} вируса натуральной оспы - ВНО (штамм Ind-3a) для аутбредных мышей ICR;

5) прогнозные величины ID_{50} ВНО, вируса оспы обезьян (BOO) и высокопатогенного вируса гриппа птиц (в/пат ВГП) А/Н5N1 для людей.

Многие из этих научных изысканий уже используются и могут применяться при разработке других модельных биосистем не только для изучения эффективности препаратов против известных вирусных заболеваний (например, Эбола), но и для оценки показателей их патогенеза и контагиозности.

О значительном объеме проделанной экспериментальной и теоретической работы и о существенных результатах, полученных автором, свидетельствует большой список публикаций из 37 трудов в российских и зарубежных изданиях, включая 2 монографии и 7 патентов Российской Федерации на изобретения, а также информация о представлении основных результатов на многочисленных международных и российских конференциях, съездах и симпозиумах (19 форумов).

Основной материал работы достаточно полно представлен в автореферате, а выводы диссертации соответствуют выводам, сделанным в автореферате.

Большой объем экспериментальных и теоретических исследований с использованием широкого спектра методов, включая редко исследуемый аэрозольный, с учетом серьезной статистической обработки результатов, научная новизна, большая практическая и теоретическая значимость, емкие выводы, а также значительное количество публикаций в отечественных и зарубежных изданиях, включая монографии и патенты Российской Федерации на изобретения, создают отличное впечатление о данной диссертации. В

качестве комментариев и замечаний по данной диссертации можно отметить следующее:

1) Объединение двух инфекций в одни предложения и абзацы в разделах задач, целей, научной новизны и актуальности диссертации создает трудности при осмыслении написанного, особенно в автореферате, гораздо легче для восприятия было бы разделение инфекций как это сделано в разделах Литературный обзор, Результаты.

2) Желательно было бы привести более полную характеристику мышей ICR, какие их маркеры, история выведения, чем отличаются от других имеющихся аутбредных мышей в питомниках России и т.д. Например, автор отмечает, что им впервые изучена эффективность противовирусных препаратов в отношении пандемического штамма H1N1 2009(pndm) на мышах ICR, но данные на аутбредных мышах в отношении противовирусных препаратов получены также в работе (Ленёва И.А., Федякина И.Т., Еропкин М.Ю., Гудова Н.В., Романовская А.А., Даниленко Д.М., Виноградова С.М., Лепешкин А.Ю., Шестопалов А.М. Изучение противовирусной активности отечественных противогриппозных химиопрепаратов в культуре клеток и на модели животных.-2010.- Вопросы вирусологии.-2010. -3.-С.19-27).

3) В Литературном обзоре автор отмечает случаи трансмиссии вируса гриппа H5N1 от человека к человеку. Однако, на настоящий момент эти случаи окончательно не доказаны, ВОЗ твердо стоит на позиции отсутствия трансмиссии инфекции H5N1 у людей.

4) При использовании биомодели «аутбредная мышь ICR – вирус гриппа A/Chicken/Kurgan/05/2005 и т.п. в/пат ВГП A/H5N1 для изучения протективной активности препаратов автор в качестве ее преимущества акцентирует внимание на том, что использует вирусы, выделенные на территории России. В качестве возражений можно отметить, что и использованная автором биомодель как впрочем и любая животная модель, имеет ограничения. Используемые автором высокопатогенные вирусы выделенные от птиц, не были выделены от людей, и пока нет окончательных данных какую инфекцию они могут вызвать у людей. В то же время в подобных многочисленных зарубежных публикациях используются высокопатогенные вирусы гриппа A/H5N1, выделенные от людей.

Однако, возникшие вопросы и замечания ни в коей мере не снижают значимость и ценность работы. Замечания по оформлению работы возможно, носят субъективный характер, так как изложение является правом и точкой зрения автора, а комментарии скорее могут быть темой научной дискуссии и служить основой для новых идей и дальнейших исследований.

Таким образом, диссертация Сергеева Артемия Александровича «Модельные биосистемы для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян и гриппа птиц (A/H5N1) у человека», представляет 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 данный труд соответствует 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 Положение о присуждении ученых степеней», а автор, без сомнений, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора медицинских наук.

Отзыв обсужден и одобрен на научной конференции отдела вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС) по адресу: 105064, (протокол от 27 октября 2016 г. № 4)

Отзыв составила:

доктор биологических наук, зав.
лабораторией экспериментальной
вирусологии отдела вирусологии
ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, г.
Москва, Малый Казенный переулок, д.5
А.

тел.+7-916-211-88-78

E-mail: Wnyfd385@yandex.ru



Ленева Ирина
Анатольевна

Подпись И.А. Леновой заверяю

Ученый секретарь института, кандидат
биологических наук




Андропова
Нелли
Иосифовна

28 октября 2016 г.

Сведения

о ведущей организации по диссертационной работе Сергеева Артемия Александровича
«Модельные биосистемы для оценки защитной эффективности препаратов от оспы обезьян
и гриппа птиц (А/Н5N1) у человека»

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

по специальности «03.02.02 – вирусология»

Защита диссертации состоится 2 декабря 2016 г. на заседании диссертационного совета
Д 208.020.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора
(630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия)

Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Сокращенное название организации: ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

Директор: Зверев Виталий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН.

Адрес: Россия 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5а

Телефон: +7 (495) 917-49-00

Факс: +7(495) 917-49-00

e.mail: mech.inst@mail.ru

сайт организации - <http://www.instmech.ru>

Основные направления деятельности:

Институт проводит приоритетные исследования фундаментального и прикладного характера по важнейшим проблемам медицинской микробиологии, иммунологии, вирусологии, биотехнологии, инфекционной эпидемиологии, разработку средств и методов профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний.

Основные публикации, связанные с тематикой анализируемой диссертационной работы (2011-2015 гг.)

I.A. Leneva, , E.I. Burtseva,, S.B. Yatsyshina,, I.T. Fedyakina,, E.S. Kirillova,
E.P. Selkova, E. Osipova, , V.V. Maleev Virus susceptibility and clinical effectiveness of anti-
influenza drugs during the 2010–2011 influenza season in Russia. 2016. International Journal of
Infectious Diseases 43; 77-84

Ленева И.А. Леонова Е.И. Махмудова Н.Р. Фалынскова И.Н. Федякина И.Т. Зверев В.В.
Михайлова Н.А. Разработка экспериментальной модели сочетанной вирусно-
бактериальной пневмонии. 2015. Вопросы вирусологии . 60(5).С.27-31.

Ленёва И. А. Фалынскова И. Н., Леонова Е. И., Федякина И. Т., Махмудова Н. Р., Осипова Е.А.
Лепеха Л. Н., Михайлова Н. А., Зверев В.В. Эффективность умифеновира (Арбидола) на
модели экспериментальной сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии мышей.
«Антибиотики и химиотерапия, 2014, 59; 9-10, с. 17-24

A.V. Ivachtchenko; Y.A. Ivanenkov; O.D. Mitkin; P.M. Yamanushkin; V.V. Bichko; N.A. Shevkun; R.N.

Karapetian; I.A. Leneva; O.V. Borisova; M.S. Veselov. *Novel oral anti-influenza drug candidate AV5080*. 2014; *J. Antimicrob. Chemotherap* 69(7): 1892-902

Alexandre V. Ivachtchenko; Yan A. Ivanenkov; Oleg D. Mitkin; Pavel M. Yamanushkin; Vadim V. Bichko; Natalia A. Shevkun; Olga V. Mokrushina; Olga O. Nevolina; Ruben N. Karapetian; Irina A. Leneva; Irina T. Fedyakina; Mark S. Veselov. *Novel oral anti-influenza prodrug candidate AV5075S*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2014; 69(5):1311-24 doi: 10.1093/jac/dkt507

Alexandre V. Ivachtchenko, , Yan A. Ivanenkov, Oleg D. Mitkin, Pavel M. Yamanushkin, Vadim V. Bichko, Irina A. Leneva, Olga V. Borisova A novel influenza virus neuraminidase inhibitor AV5027 *Antiviral Research*, 2013,V. 100 P. 698-708, DOI information: .1016/j.antiviral.2013.10.008

Федякина И.Т. , Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г. , Ленева И.А., Гудова Н.В., Кондратьева Т.В., Львов Д.К. Изучение чувствительности пандемических вирусов гриппа А 2009 H1N1и высоковирулентных вирусов гриппа птиц А (H5N1) к противогриппозным химиопрепаратам// Антибиотики и химиотерапия.-2011.-№6.-3-9

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», к.б.н.

Андропова Н.И.

