

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических
препаратов имени М.П.Чумакова РАН»**

142782, г. Москва, поселение Московский,
поселок Института полиомиелита,
27 км. Киевского шоссе.

№ _____
На № _____ от _____

E-mail: institute@poliomyelit.ru

Сайт: www.poliomyelit.ru

Телефон: (495) 841-90-07

« ____ » _____ 2017г.

Отзыв на диссертационную работу

Ларионовой Натальи Валентиновны

«ВОЗБУДИТЕЛЬ ГРИППА: ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ПРИРОДЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ»

представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук

по специальностям 03.02.02-вирусология

Актуальность темы. Грипп остается серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. Эпидемии гриппа происходят каждый год и охватывают до 15% населения Земли. Пандемии возникают каждые 10–40 лет. Помимо циркулирующих вирусов гриппа человека, потенциальную угрозу пандемии несут высоко патогенные вирусы гриппа птиц. Постоянная эволюция вируса гриппа, следствием которой является дрейфовое обновление антигенных свойств, периодическое появление пандемических вирусов, к которым у людей нет иммунитета, существенно осложняют вакцинопрофилактику, создавая необходимость практически ежегодного обновления состава гриппозных вакцин. Инактивированные вакцины особенно чувствительны к антигенному дрейфу, что делает живые вакцины, обладающие более широкой защитой и более длительным иммунитетом, предпочтительными.

Подготовку вакцинных штаммов для живых гриппозных вакцин (ЖГВ) в России осуществляет отдел вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «НИИ Экспериментальной медицины». Начиная с 1977 года, в отделе вирусологии НИИЭМ накоплен большой опыт разработки и конструирования реассортантных живых гриппозных вакцин для взрослых и для детей на основе отечественных доноров аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) и В/СССР/60/69. Многолетние исследования отечественной ЖГВ подтвердили ее безвредность и эпидемиологическую эффективность.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций; достоверность и новизна

Свойства живых гриппозных реассортантных вакцин, подготовленных на основе отечественных холодаадаптированных и температурочувствительных доноров аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) (A17) и В/СССР/60/69 (B60), исследуются в России с 1977 года. Многократные клинические испытания с участием 150 тыс. детей и 500 тыс. взрослых

подтвердили их безусловную безвредность и эффективность. С 1987 года реассортантная ЖГВ применяется в России для всех возрастных групп населения, начиная с 3-летнего возраста.

Громадное значение для контроля за постоянно возобновляющимися вакцинными штаммами имеет понимание того, какие параметры донора аттенуации ответственны за аттенуированный фенотип. Н.В.Ларионовой была проделана большая работа по анализу многочисленных реассортантов с разными сочетаниями генов от донора аттенуации и дикого вируса в результате чего было установлено, что определяющую роль в аттенуации донора и реассортантов с различным набором «диких» генов предшественника играют мутантные гены полимеразного комплекса. Были охарактеризованы мутации в этих генах, ответственные за проявление холодоадаптированного, температурочувствительного и непосредственно связанного с температурочувствительностью аттенуирующего фенотипа у донора А/Ленинград/134/17/57.

Эти же белки играют решающую роль у донора В/СССР/60/69. Для донора В/СССР/60/69 Н.В.Ларионова так же установила, какие аминокислотные позиции ответственны за аттенуирующие признаки.

Достоверность результатов определяется комплексным подходом к проведению исследований, выполненных с использованием современных методов.

Основные выводы Н.В.Ларионовой (что молекулярные основы формирования *ts* фенотипа, у вирусов гриппа А и В едины, и что ведущую роль в аттенуации штаммов-доноров вирусов гриппа А17 и В60 играют мутации в генах, кодирующих РНК-зависимую-РНК-полимеразу) имеют мировой приоритет и основаны на богатейшем фактическом материале.

Значимость полученных результатов для науки и практики С 1995 года Н.В.Ларионовой было подготовлено, запатентовано и передано в производство двадцать холодоадаптированных реассортантных вакцинных штаммов ЖГВ, включая вакцину к пандемическому вирусу гриппа pdm2009 А(Н1N1) и к сезонным вирусам гриппа: к А (Н1N1) – три штамма, к А (Н3N2) – семь штаммов и к вирусам гриппа В – восемь штаммов. Помимо этого, разработаны экспериментальные вакцины к потенциально-пандемическим вирусам гриппа свиней А (Н3N2)_v и высокопатогенным вирусам гриппа птиц А (Н5N1), проведены их доклинические и клинические исследования.

В результате скрещивания вирусов VN/1203/PR8-IBCDC-RG и NIBRG-23 с донором аттенуации удалось получить 7:1 реассортанты, содержащие ген, кодирующий гемагглютинин Н5 птичьего происхождения, а остальные гены от донора аттенуации. Попытки получить реассортанты с геном нейраминидазы N1 птичьего происхождения оказались безуспешными. Однако, доклинические испытания 7:1 реассортантов показали, что полученные вакцинные штаммы были высоко аттенуированы и иммуногенны для животных (хорьков) и эффективно защищали их от инфекции как гомологичными, так и гетерологичными высокопатогенными вирусами гриппа птиц. Таким образом, показана возможность подготовки ЖГВ из

высокопатогенных потенциально пандемических вирусов гриппа птиц H5N1 в куриных эмбрионах, используя как источник антигенов HA и NA генно-инженерные реассортанты для инактивированных вакцин.

Важнейшим параметром живых вакцин является стабильность аттенуирующих мутаций в геноме реассортантных вакцинных штаммов. Изучение реизолятов вакцинных штаммов, выделенных от детей привитых живой вакциной показало высокую стабильность генома донора аттенуации. Эти данные подтверждают невозможность прямой реверсии к «дикому» фенотипу холодаадаптированных вирусов, как в процессе их накопления в лабораторных и производственных условиях, так и в попытках пассирования вакцинных штаммов при неразрешающих температурах инкубации.

Помимо большой практической значимости, работа Н.В.Ларионовой богата оригинальными теоретическими построениями, вносящий вклад в понимание закономерностей циркуляции вирусов гриппа и эффективности вакцин.

Очень интересна теория эволюции человеческих вирусов с циклами естественной аттенуации и появлением новых, более патогенных вариантов.

Также интересно сравнение преимуществ и недостатков двух методов реассортации классического и генно-инженерного. Классическая реассортация обладает определенными преимуществами перед методами обратной генетики, поскольку приводит к естественному отбору вакцинных клонов с высокими репродуктивными возможностями в РКЭ, а это важный показатель для производства. Недостатком естественной реассортации можно признать закрепление спонтанных или адаптивных мутаций в процессе пассажей в РКЭ, однако если мутации не влияют на антигенные и рецепторные детерминанты, либо еще на какие-нибудь существенные характеристики, как например, устойчивость к химиопрепаратам, то на свойствах вакцины это не отразится.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Материалы диссертации опубликованы в престижных отечественных и зарубежных журналах (49 статей). Кроме того, на вакцинные штаммы, созданные Н.В.Ларионовой, получено 20 патентов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Теоретические разработки Н.В.Ларионовой могут быть полезны при создании реассортантных штаммов. Вакцинные штаммы, полученные Н.В.Ларионовой используются во многих странах в качестве живых вакцин.

Соответствие диссертации критериям пункта 9 Положения о присуждении учёных степеней

Работа представляет собой доброкачественное научное исследование, обладающее актуальностью, практической значимостью и научной новизной.

По актуальности, методическому уровню, научно-практической значимости полученных результатов работа полностью отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Наталья Валентиновна Ларионова, достойна присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Доктор биологических наук,
Зав. лаб. молекулярной биологии
вирусов гриппа

10.03.2017.  /А.С.Гамбарян/

Подпись Гамбарян А.С. удостоверяю.
Директор по организационно-
методологической работе

10.03.2017.  /С.Е.Соцкова/
