

Отзыв

на автореферат диссертации Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А (H₃N₂) и В, циркулировавших на территории Азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.», представленной в диссертационный совет Д001.043.01 при ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Грипп представляет серьезную проблему современного здравоохранения и вызывает множество проблем социального и экономического характера. Высокая степень изменчивости генома вируса в результате накопления отдельных мутаций, в том числе опасных для людей, обуславливает возникновение ежегодных эпидемий. Возникновению эпидемии и распространению гриппа способствуют постоянно увеличивающаяся численность населения, интенсивные миграционные процессы. В настоящее время накоплено достаточно информации об изменчивости и распространенности вируса гриппа среди населения, однако варианты вируса, возникающие каждый эпидемический сезон отличаются от циркулировавших ранее. Поэтому постоянный надзор за распространением гриппа, патогенностью и изменчивостью вируса гриппа является актуальной проблемой эпидемиологии.

Современный уровень развития молекулярно-генетических и вычислительных методов исследования дают возможность осуществлять не только анализ циркулирующих типов вируса и распространения инфекции, но и изучать сам вирус на различных уровнях его развития.

Поэтому выбор диссертантом для выполнения запланированной работы азиатскую часть России научно обоснован тем, что эта часть России географически близка к странам Юго-Восточной Азии, где ежегодно начинается подъем заболеваемости населения гриппом, а возбудитель характеризуется наличием определенных мутаций. В последующем эпидемия гриппа из этих стран распространяется на территорию Российской Федерации.

В этой связи работа Соболева И.А. посвященная изучению изменчивости вирусов гриппа А (H₃N₂) и В, циркулировавших на территории Азиатской части России в различные годы является актуальной и имеет теоретическую, научную и практическую значимость.

Сформулированные диссертантом цель и задачи работы полностью отражают суть проведенных исследований.

Диссертант комплексными исследованиями с использованием классических вирусологических, серологических, молекулярно-биологических методов, компьютерного анализа научно обосновал участие генетически разнообразных вирусов гриппа А (H₃N₂) и В в различные эпидемические сезоны в азиатской части России с 2008 по 2013 годы.

Научная новизна исследований диссертанта заключается в том, что он впервые изучив 29 штаммов вируса гриппа А (H₃N₂) и 33 штаммов вируса гриппа В, выделенных в азиатской части России определил нуклеотидные последовательности генов, кодирующих гемагглютинин и нейроминидазу, выявил паттерны накопления мутаций, определил степень генетической идентичности поверхностных гликопротеинов всех исследованных штаммов и показал динамику изменчивости вирусов.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что на основании результатов проведенных исследований в коллекцию микроорганизмов ФНУН ГНЦ ВБ «Вектор» сдана коллекция штаммов вируса гриппа различных типов/субтипов, циркулировавших в азиатской части РФ в 2008-2013 гг., которые могут быть использованы для приготовления диагностических препаратов, а также в сравнительных научных исследованиях биологических свойств выделяемых изолятов вируса гриппа.

Материал и объем проведенных исследований позволили достаточно полно решить поставленные задачи. Четкая систематизация и изложение материала, повторяемость экспериментов не вызывает сомнения в достоверности представленных результатов и выводов.

Автореферат изложен системно, дает ясное представление о проведенных исследованиях и полученных результатах.

Основные положения диссертационной работы доложены и одобрены на международных симпозиумах научных конференциях прошедших в Российской Федерации, ближнем и дальнем зарубежье.

Результаты диссертации отражены в 6 научных статьях и 14 тезисах докладов на Российских и международных конференциях.

Умелое использование литературных данных, большой объем экспериментов, владение многими современными методами исследований по определенной теме свидетельствуют о высокой эрудиции и организаторских способностях диссертанта.

Актуальность выбранной темы, большой объем проведенных исследований, новизна, научно практическое и теоретическое значение полученных данных, их достоверность позволяют заключить, что работа Соболева И.А. соответствует требованиям ВАК Минобрнауки Российской Федерации, предъявляемым кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук.

Зав. кафедрой инфекционных болезней КГМУ,

доктор медицинских наук, профессор

420012 г. Казань, ул. Бутлерова, 49

email: irinanicolaeva@mail.ru

мобильный телефон: 8 990 037 70 17

рабочий телефон: 8(843) 276 80 72

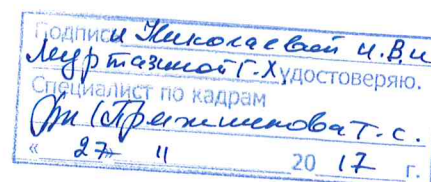
И.В. Николаева

Доцент кафедры инфекционных болезней КГМУ,

кандидат медицинских наук



Г.Х. Муртазина



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соболева Ивана Андреевича «**Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Диссертационная работа Ивана Андреевича Соболева посвящена актуальной проблеме – изменчивости поверхностных гликопротеинов (гемагглютинина – НА и нейраминидазы – NA) вирусов гриппа. Изменчивость поверхностных гликопротеинов, приводит к тому, что те вирусы гриппа, которые не нейтрализуются или слабее нейтрализуются антителами организма-хозяина, сохраняются естественным отбором как более приспособленные. Таким образом, изменчивость НА и NA сезонных (эпидемических) штаммов вируса гриппа приводит к ежегодным подъемам заболеваемости, сопряженным со значительной нагрузкой на учреждения системы здравоохранения.

В экспериментальной части исследования была выполнена наработка изолятов вируса гриппа на чувствительной культуре клеток MDCK, выделение РНК вируса гриппа, секвенирование методом Сэнгера. Кроме того, в реакции торможения гемагглютинации были исследованы антигенные свойства выделенных штаммов. В аналитической части работы Соболевым И.А. было определено генетическое разнообразие вирусов гриппа А(Н3N2) и В, проведен анализ аминокислотных замен, установлены филогенетические связи исследованных штаммов. Таким образом, используя разнообразные вирусологические, молекулярно-биологические и компьютерные методы исследования и анализа, автор охарактеризовал изменчивость НА и NA штаммов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, выделенных на территории азиатской части Российской Федерации.

Автором показано, что генетическое разнообразие вирусов гриппа А(Н3N2), циркулировавших в азиатской части РФ с 2008 г. по 2013 г., было представлено в эпидемический сезон 2008-2009 гг. штаммами клады Brisbane/10, в 2010-2011 гг. – штаммами подгруппы 1 клады Perth/16, в 2011-2013 гг. - штаммами подгрупп 3В, 3С и 3С.3 клады Victoria/208. Генетическое разнообразие вирусов гриппа В, циркулировавших в азиатской части РФ с 2008 г. по 2013 г., было представлено в эпидемический сезон 2008-2009 гг. штаммами клады 1А генетической линии В/Victoria, в 2010-2011 гг. – штаммами 1В генетической линии В/Victoria, в 2011-2012 гг. - штаммами клады 1А генетической линии В/Victoria и клады 3 генетической линии В/Yamagata, в 2012-2013 гг. – штаммами клады 2 генетической линии В/Yamagata. Таким образом, в течение эпидемического сезона 2009-2011 гг. вирусы гриппа А(Н3N2) и В в азиатской части РФ не обнаруживались. Известно, что вирус гриппа типа В представлен двумя генетическими линиями: В/Yamagata и В/Victoria. Согласно результатам, полученным Соболевым И.А., за рассматриваемый период (2008-2013 гг.) совместная

циркуляция двух генетических линий гриппа типа В была обнаружена только в течение эпидемического сезона 2011-2012 гг.

Согласно исследованиям Соболева, накопление аминокислотных замен в поверхностных гликопротеинах на протяжении четырех эпидемических сезонов происходило по ограниченному числу позиций, главным образом в антигенных сайтах. При этом, штаммы вирусов гриппа А(Н3N2) и В, изолированные в течение эпидемического сезона 2010-2011 гг., по генетической изменчивости и характерным аминокислотным заменам значительно отличались от штаммов как предыдущего, так и последующих сезонов.

Считаю возможным утверждать, диссертационная работа Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.» является полноценным научным исследованием, выполненным с использованием современных методических подходов и соответствует критериям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

д.б.н., заведующий лабораторией геносистематики Лимнологического института СО РАН, 664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская 3, тел. (3952) 42-29-23. Электронная почта: sherb@lin.irk.ru

4 декабря 2017 г.

подпись Д.Ю. Щербакова заверяю



Дмитрий Юрьевич Щербаков

и.о. ученого секретаря ЛИИ СО РАН

к.б.н. Наталья Васильевна Максимова

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология»

Диссертационная работа Ивана Андреевича посвящена анализу генетического разнообразия и изменчивости штаммов вирусов гриппа, циркулировавших на азиатской части Российской Федерации с 2008 по 2013 год. Актуальность этой работы не вызывает сомнения, так как в ней исследуются закономерности изменчивости быстро эволюционирующего вируса, от которого ежегодно страдают миллионы людей. Изучение этих закономерностей может помочь с выбором правильной стратегии при ежегодном создании вакцины от вируса гриппа.

Используя биологические образцы, полученные более чем от двух тысяч пациентов, Иван Андреевич выявил 62 различных штамма вирусов гриппа А и В. Для всех штаммов были определены последовательности генов гемагглютинина и нейраминидазы. При помощи ряда современных биоинформатических методов анализа были всесторонне исследованы филогенетические отношения между штаммами, изолированными в разные годы. В частности, были определены основные клады и подгруппы, циркулировавшие в указанный период. На основе полученных результатов были обнаружены наиболее характерные аминокислотные замены в генах гемагглютинина и нейраминидазы. Примечательно, что последняя характеризовалась большей изменчивостью, несмотря на то, что иммунная система в первую очередь опознает гемагглютинин. Кроме того были выявлены интересные закономерности в составе штаммов, циркулировавших во время пандемии гриппа А(H1N1) pdm09.

В целом полученные результаты свидетельствуют о большом объеме проделанной работы. Достоверность комплексного биоинформатического анализа сомнения не вызывает, что подтверждается высоким уровнем публикаций, в которых представлен материал диссертации.

Автореферат диссертации написан четко и ясно, материал изложен логично, поставленные задачи выполнены полностью, выводы являются обоснованными.

Диссертация Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.» полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата

наук, а ее автор, Соболев И.А., заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология».

Максимов Даниил Александрович,
к.б.н., научный сотрудник



20.11.2017

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН,
Новосибирск, 630090, пр. Лаврентьева, 8/2
Тел. 8(913)3760345
e-mail: Vift@mcb.nsc.ru



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной и клеточной биологии
Сибирского отделения Российской академии наук
Подпись: *Максимов Д.А.*
Зав. канцелярией ЗАВЕРЯЮ
"20" 11 2017

Денис А. Демешкина

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Соболева Ивана Андреевича
на тему: «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа
А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ
с 2008 по 2013 гг.»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.02 – вирусология**

Высокая контагиозность и изменчивость вируса гриппа, а также длительная персистенция его в организме человека усиливают социально-экономическую значимость этой проблемы и необходимость проведения вирусологического мониторинга гриппа и исследования популяционного иммунитета населения. Чрезвычайная активность механизма передачи вируса гриппа обуславливает его повсеместное распространение и высокую интенсивность эпидемического процесса. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно острыми респираторными заболеваниями болеет каждый третий житель планеты.

Целью проведенных исследований является анализ генетического разнообразия и изменчивости поверхностных гликопротеинов сезонных (эпидемических) вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших в человеческой популяции на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.

Научная новизна диссертационной работы Соболева И.А. заключается в том, что автором впервые определены нуклеотидные последовательности генов, кодирующих гемагглютинин и нейраминидазу 29 штаммов вируса гриппа А(Н3N2) и 33 штаммов гриппа В, выделенных в азиатской части РФ, выявлены паттерны накопления мутаций в поверхностных гликопротеинах вируса гриппа и обнаружены позиции, по которым происходило накопление аминокислотных замен, ассоциированных с изменением антигенных свойств вируса и, следовательно, с уклонением от иммунного ответа организма-хозяина.

Автором определена степень генетической идентичности поверхностных гликопротеинов всех исследованных штаммов и вакцинных штаммов рассматриваемых эпидемических сезонов, выявлена гетерогенность (по поверхностным гликопротеинам) пула циркулировавших вариантов вируса гриппа, показана динамика изменчивости вирусов гриппа А(Н3N2) и В, изолированных на территории азиатской части России.

Поставленные в процессе работы задачи выполнены методически правильно, с использованием обоснованных и современных научных методик. Диссертантом проделана сложная и кропотливая работа, проведены

обширные исследования, получены результаты, о научной и практической значимости которых свидетельствуют публикации в материалах международных научно-практических конференций и научно-периодических изданиях.

Основные выводы и практические предложения, изложенные в диссертации, обоснованы и являются логическим результатом проделанной Соболевым И.А. работы.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Соболева И.А. является научно-исследовательской квалификационной работой, соответствующей требованиям п.9, предъявляемых к кандидатским диссертациям Положением «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Зав. лаб. иммунологии
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», д.б.н.



М.А. Ефимова

Подпись М.А. Ефимовой заверяю:
ученый секретарь ФГБНУ
«ФЦТРБ – ВНИВИ», к.в.н.



В.И. Степанов

Адрес: 420075, Казань, Научный городок-2
Тел./факс (843)239-53-18, E-mail: vnivi@mail.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Грипп – это острое инфекционное заболевание дыхательных путей из группы острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), вызываемое вирусами гриппа. Способность вирусов гриппа к эпидемическому распространению вызывает особую обеспокоенность международного сообщества.

Диссертационная работа Соболева И.А. посвящена анализу генетической и антигенной изменчивости гемагглютинина (НА) и нейраминидазы (NA) вирусов гриппа А/Н3N2 и В перед пандемией вируса гриппа А/Н1N1 pdm09 и после нее. Автором были определены нуклеотидные последовательности сегментов генома, кодирующих поверхностные гликопротеины вирусов гриппа А(Н3N2) и В, выделенных на территории азиатской части РФ в течение четырех эпидемических сезонов (2008-2009 гг., 2010-2011 гг., 2011-2012 гг. и 2012-2013 гг.). Согласно результатам, представленным Соболевым И.А., в течение сезона 2009-2011 гг. (пандемия вируса гриппа А(Н1N1)pdm09) не были обнаружены вирусы гриппа А(Н3N2) и В, что указывает на изменения этиологической структуры гриппа в пандемический и постпандемический периоды. На основе молекулярно-биологического и филогенетического анализа было определено генетическое разнообразие (типы, субтипы, клады и группы) исследованных штаммов вируса гриппа. Кроме того, в работе Ивана Андреевича выявлены паттерны накопления мутаций в поверхностных гликопротеинах вируса гриппа и показаны позиции, по которым происходило накопление аминокислотных замен, ассоциированных с изменением антигенных свойств вируса, а значит с уклонением от иммунного ответа организма-хозяина. В результате анализа последовательностей аминокислотных остатков NA автором показано, исследованные штаммы не содержат известных мутаций, обуславливающих снижение чувствительности к ингибиторам нейраминидазы, за исключением аминокислотных замен в положении 151 NA, возникающих при пассировании вирусов на чувствительных культурах клеток и ассоциированных со снижением чувствительности к занамивиру.

Работы выполнены на высоком методическом уровне. Были использованы как лабораторные методы (амплификация вирусов на культуре клеток, экстракция нуклеиновых кислот, обратная транскрипция, ПЦР, секвенирование по Сэнгеру, РТГА),

так и методы компьютерного анализа (филогенетические деревья, филогенетические сети, матрицы попарных дистанций, тепловые карты, трехмерное моделирование).

К достоинствам работы можно отнести использование при анализе филогенетических отношений штаммов, как филогенетические деревья построенные по дихотомическим алгоритмам, также и метода филогенетических сетей. Последний метод особенно актуален при исследовании клонально-организованных сообществ микроорганизмов. Интересным методическим подходом оказалось применение матриц попарных эволюционных дистанций и построение на их основе «тепловых карт».

Результаты диссертационной работы опубликованы в достаточном количестве публикаций и представлены на российских и международных научных конференциях.

Таким образом, можно заключить, что диссертация Соболева Ивана Андреевича «Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А(Н3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг.» является качественной научно-квалификационно работой, соответствует всем требованиям, предъявляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук и представленным в пункте 9 Положения о присуждении ученых степеней (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842)., а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

д.м.н., г.н.с., заведующий отделом Эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный Центр Проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003 Иркутск, ул. Тимирязева 16, тел. (3952) 20-73-67, Электронная почта: obogarkov@mail.ru

5 декабря 2017 г.

Огарков Олег Борисович

Подпись Огарков О.Б.
удостоверяю
Начальник отдела
кадров И.С. Машарова

