

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.043.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета 15.12.15г № 4

О присуждении Прокопьевой Елене Александровне, Российская Федерация, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Фенотипические и генотипические свойства пандемического вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 при адаптации к мышам различного генотипа» по специальности 03.02.02 – вирусология принята к защите 7 октября 2015г., протокол №2 диссертационным советом Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17, утвержденного приказом № 980/нк от 16 декабря 2013г.

Соискатель - Прокопьева Елена Александровна, 1985 года рождения, в 2009 году окончила "Новосибирский государственный университет" (НГУ).

В 2012 году окончила обучение в очной аспирантуре на базе Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»). С 2010 по 2013гг. работала в должности стажера-исследователя в ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор", с 2013г. по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения "Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины" (НИИЭКМ), совмещая с преподавание курса «Функциональная морфология органов и систем» на кафедре физиологии в НГУ.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Шестопалов Александр Михайлович, НИИЭКМ, лаборатория экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории.

Официальные оппоненты:

Игнатъев Георгий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, ООО "ФОРТ", заместитель генерального директора по науке;

Калинина Ольга Викторовна, доктор биологических наук, Федеральное бюджетное учреждение науки "Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера", ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии" (НИИФКИ), Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Чепурновым Александром Алексеевичем, доктором биологических наук, лаборатория регуляции иммунорезонанса, ведущим научным сотрудником, указала, что диссертационное исследование Прокопьевой Е.А. по актуальности, методическому уровню, значимости полученных результатов и выводов, количеству публикаций в рецензируемых научных изданиях соответствует требованиям пп. 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее соискатель Прокопьева Елена Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 - вирусология.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 3 работы, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, и 1 патент. Опубликованные работы относятся к области медицинской вирусологии и посвящены изучению биологических свойств вновь выделенных на территории Российской Федерации пандемических вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 и высоко патогенного штамма A(H5N1). В работах отражено исследование фундамен-

тальных основ вирулентности изученных вирусных агентов и патогенеза, вызванной ими инфекции в экспериментальных условиях. Работа выполнена соискателем самостоятельно, участие соавторов отражено в совместно изданных научных статьях. Объём научных изданий - 3 п.л.

Наиболее значительные работы:

1. Prokop'eva, E.A. Biological Characteristics of Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Circulating in West Siberia during Pandemic and Post-Pandemic Periods / E.A. Prokop'eva, O.G. Kurskaya, S.G. Saifutdinova, A.V. Glushchenko, L.V. Shestopalova, A.M. Shestopalov, V.A. Shkurupii // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.** – 2014. – V. 156. - № 5. – P. 673-679.
2. Прокопьева, Е.А. Особенности влияния пандемического вируса гриппа А/Н1N1 на клетки головного мозга лабораторных мышей / Е.А. Прокопьева, А.В. Глущенко, Л.В. Шестопалова, А.М. Шестопалов // **Вестник НГУ.** - Т. 11. - Вып. 3. - 2013. - С.84-90.
3. Прокопьева, Е.А. Ультраструктурные изменения альвеолоцитов и макрофагов легких под влиянием высокопатогенного вируса гриппа птиц H5N1 / Е.А. Прокопьева, К.В. Корчагина, Д.А. Максимова, А.В. Зайковская, В.А. Шкурупий, А.М. Шестопалов, Л.В. Шестопалова // **Вестник НГУ.** - Т. 9. - Вып. 1. - 2011. - С.58-65.
4. Сивай, М.В. Синтетические олигонуклеотиды-праймеры, используемые для получения первичных последовательностей генов (PB2, PB1, PA, NP, MP, NS) низкопатогенных вирусов гриппа птиц / М.В. Сивай, К.А. Шаршов, Е.А. Прокопьева, А.Г. Дурыманов, А.М. Шестопалов; Пат. № 2522822 от 11.10.12 Российская Федерация, МПК7 С 12 Q 1/68, С 12 N 15/09, С 12 Т 7/00; заявитель и патентообладатель Новосибирск, Новосибирский государственный институт. - Бюл. № 20. - 9 с. : 1ил.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв на автореферат, подписанный академиком РАН, доктором медицинских наук, профессором, заслуженным деятелем науки

РФ Новицким Вячеславом Викторовичем, заведующим кафедрой патофизиологии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Сибирский государственный образовательный университет" Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России), г. Томск. Отзыв положительный, замечаний нет.

2. Отзыв на автореферат, подписанный академиком РАН, доктором медицинских наук, профессором, заслуженным деятелем науки РФ, Дыгай Александром Михайловичем, заведующий отделом патофизиологии и регенеративной медицины, директором федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» (НИИФиРМ), г. Томск. Отзыв положительный, замечаний нет.
3. Отзыв на автореферат, подписанный доктором биологических наук Беклемишевым Анатолием Борисовичем, заведующим лабораторией генной инженерии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биохимии», г. Новосибирск. Отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией, интересом к тематике представленного научного исследования, собственными достижениями в данной отрасли науки, наличием публикаций по теме диссертации и способностью определить научную и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы и произведен в соответствии с требованиями пункта 22 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013 г.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана панель высоко патогенных пандемических штаммов вируса гриппа А/Tomsk/273-MA1/2010(H1N1pdm09), А/Tomsk/273-MA2/2010(H1N1pdm09) и А/Tomsk/273-MA3/2010(H1N1pdm09), адаптированных к мышам инбредных линий BALB/c, C57BL/6z и к аутбредным мышам CD1, соответственно. Данные штаммы депонированы в Музей вирусов гриппа и ОРЗ ФГБУ «НИИ гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург) под номерами 5410, 5411 и 5412, соответственно.

полученная панель пандемических вирусов **может быть использована** для дальнейшего изучения механизмов патогенеза тяжелых форм гриппозной инфекции, а также определения противовирусной активности новых химиопрепаратов;

доказана способность пандемического вируса гриппа А(H1N1)pdm09 адаптироваться к генетически различным группам лабораторных мышей, вызывая 100% летальность в результате селекционного накопления мутаций в вирусном геноме;

доказано, что процесс развития генерализованной инфекции, вызванной адаптированным вариантом вируса гриппа А(H1N1)pdm09 и вирусом гриппа А/Н5N1, протекают аналогично в организме инфицированных животных;

впервые показаны различия в уровне вирулентности у полученных адаптированных штаммов пандемического вируса гриппа при инфицировании мышей различных генетических линий.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

изучены биологические свойства адаптированных вариантов пандемического вируса гриппа А(H1N1)pdm09 в сравнении с высоко вирулентным вирусом гриппа А/Н5N1 (уровень репликации во внутренних органах инфицированных мышей, таких как легкие, мозг, печень, почки, тонкая кишка, а также в клеточной культуре MDCK);

доказано, что пандемический вирус гриппа A(H1N1)pdm09 становится летальным только после его адаптации к мышам различных генетических групп. При этом вирус приобретает способность к репродукции не только в лёгких, но и в головном мозгу, печени, почках аналогично высоко патогенному штамму A/goose/Krasnoozerskoye/627/05(H5N1);

установлено, что в результате адаптации штамма A/Tomsk/273/2010(H1N1pdm09) к мышам различных линий у полученных вариантов пандемического вируса происходят идентичные аминокислотные замены, обусловленные мутациями в генах PB2, PA, HA, NP, NA и NS2;

получены доказательства развития летальной интерстициальной пневмонии в лёгких мышей линии BALB/c после их инфицирования адаптированным вариантом пандемического вируса гриппа с преимущественной репродукцией вируса в альвеолоцитах 2-го типа и в альвеолярных макрофагах.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что создана экспериментальная модель летальной гриппозной инфекции, которая может быть успешно использована для оценки противовирусной активности новых противовирусных препаратов. Модель была успешно использована при оценке противовирусной активности окисленных декстранов с разной молекулярной массой по снижению смертности среди мышей инфицированных, адаптированным вариантом пандемического вируса гриппа.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что

результаты экспериментальных работ, полученных на большом объеме исследований, с использованием современных методов и сертифицированного оборудования, проходящего плановый и контрольно-технический осмотры;

теория исследования построена в соответствии с международной практикой изучения вирусов гриппа, базирующейся на изучении генетических, антигенных и биологических свойств адаптированных вариантов пандемического вируса гриппа;

адекватная статистическая обработка материала обеспечила надежность интерпретации данных и полученных выводов.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном выполнении всех основных разделов работы. Автором проведен ряд исследований: вирусологическое (*выделение вируса в культуре клеток MDCK; инфицирование животных; определение LD₅₀*), молекулярно-биологическое (*выделение РНК; проведение ПЦР в реальном времени; гель-электрофорез, анализ ДНК последовательности; филогенетический анализ*), серологическое (*РТГА; микронейтрализации*), а также методы морфофункционального анализа (*световая и электронная микроскопия; иммуногистохимический анализ*).

Лично автором выполнен большой объем работ по адаптации пандемических вирусов гриппа к различным линиям мышей под контролем репродукции вирусов в легких, с определением изменений веса животных, показателя летальности и анализом изменений в структуре генома на заключительном этапе адаптации.

Ряд полученных адаптированных вариантов пандемического вируса гриппа вызывал в организме инфицированных животных генерализованную летальную инфекцию, по клиническим признакам сходную с гриппом А(Н5N1).

Впервые в России автором выявлены различия в уровне вирулентности адаптированных штаммов в зависимости от линии инфицируемых мышей. Автором установлено также, что данные отличия обусловлены структурными изменениями в геноме вируса.

Большая часть экспериментальных исследований проведена лично автором, включая обобщение и анализ данных, статистическую обработку полученных результатов, а также подготовку публикаций по выполненной работе.

На заседании **15 декабря 2015 года** диссертационный совет принял решение присудить Прокопьевой Елене Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук, участвовавших в заседании, из 20 человек,

входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель заседания,
заместитель председателя
диссертационного
совета Д 001.043.01

доктор медицинских наук, профессор




Сомина Анна Адольфовна

Ученый секретарь
диссертационного
совета Д 001.043.01

кандидат биологических наук



Суховецкая Вера Федотовна

Дата оформления Заключения 15.12.15г.

М.П.