

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  
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 03 апреля 2018 г. № 3

О присуждении Лосеву Игорю Владимировичу учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Особенности развития адаптивного иммунного ответа к вирусам гриппа А (H5N1), А(H5N2) и А(H2N2)» по специальности 03.02.02 – вирусология, принята к защите 16.01.2018 г., протокол № 1 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 2013 г.

Соискатель Лосев Игорь Владимирович, 1981 года рождения, в 2003 году закончил Санкт-Петербургскую государственную химико-фармацевтическую академию с присвоением квалификации «провизор» по специальности «фармация».

В период с 1986 по 1989 годы работала врачом-эпидемиологом санитарно-эпидемиологической станции Соломбальского района г. Архангельска и городской санитарно-эпидемиологической станции г. Архангельска. С 2012 года по настоящее время работает в должности научного сотрудника в Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Институт Экспериментальной Медицины». За период трудовой

деятельности обучался на курсах повышения квалификации по специальности «Вирусология» и курсах тематических усовершенствований. С 2013 по 2017 гг. прошёл обучение в очной аспирантуре Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Институт Экспериментальной Медицины».

Диссертация выполнена в Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Институт Экспериментальной Медицины».

Научный руководитель:

1. доктор медицинских наук, профессор Найхин Анатолий Нойевич, Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Институт Экспериментальной Медицины».

**Официальные оппоненты:**

1. Назаров Петр Григорьевич - доктор медицинских наук, профессор руководитель отдела иммунологии Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Институт Экспериментальной Медицины».

2. Ленёва Ирина Анатольевна - доктор биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальной вирусологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАН.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию, содержащие следующие замечания:

1. В разделе диссертационной работы «Материалы и методы» очень неполно описана методика цитометрического определения Т-клеток памяти центрального и периферического типа, не указаны применявшиеся моноклональные антитела к хемокиновому рецептору CCR7 и антигену клеток памяти CD45RA, и не приведена схема самого исследования. В автореферате, правда, описание метода даётся, но с опечаткой в названии антитела.

2. Присутствуют опечатки. Например, в автореферате на странице 7 фермент RDE назван “receptor destroid enzyme” (надо “receptor-destroying enzyme”), на странице 8 антитело CCR7 обозначено CDR7, и ряд других.

3. В разделе Материалы и методы не указано, были ли зарегистрированы клинические испытания ЖГВ, если да, то необходимо указать номера регистрации исследований на сайте <http://www.clinicaltrials.gov/>.

4. В разделе Материалы и методы в пункте 3.3. было бы полезно подробно описать процедуру получения легких и особенно верхних дыхательных путей у животных для дальнейшего определения титра вируса в них.

5. В тексте присутствуют некоторые стилистические неточности. Так, например, на стр. 28 и есть ошибки в согласовании падежей у существительных в предложениях. При обозначении сокращений не приведен русский перевод MOI множественность инфекции.

6. Упоминаются (например, на стр. 78 диссертации) научные направления: «вирусологическая иммунология» и «молекулярно–генетическая иммунология», которые на мой взгляд спорны и не являются не общепринятыми, однако использование данных терминов может являться правом и точкой зрения автора.

Официальными оппонентами заданы следующие вопросы:

1. При исследовании иммунного ответа к вирусам гриппа А(H2N2) из-за строгого ограничения на введение людям вируса гриппа А(H2N2) вы использовали мышиную модель. В настоящее время проводится большое количество исследований с реассортантами, сходными с Вашими, на хорьках, которые по ряду параметров считаются более оптимальной моделью для изучения гриппозной инфекции. Понятно, что проведение исследований на хорьках требует особых условий и вряд ли было бы осуществимо в рамках данной диссертационной работы. Однако, хотелось бы знать есть ли подобные

данные в литературе на хорьках, если да, насколько данные, полученные Вами на модели мышей коррелируют с данными, полученными на модели хорьков, есть ли различия и если есть, то какие и чем им можно объяснить? Как Вы считаете, насколько данные, полученные Вами на мышах, можно перенести на человеческую популяцию?

2. Автором показано формирование вирусспецифических Т-клеток памяти у людей, привитых живой гриппозной вакциной H5N2, и показана разная динамика центральных и эффекторных клеток памяти. Эти новые и чрезвычайно интересные данные важны, однако автор не уделил должного внимания их обсуждению и объяснению. Роль этих типов клеток долговременной памяти в формировании противовирусной защиты практически не пояснена. Учитывая новизну этих данных, практически полную неразработанность вопроса в литературе, хотелось бы получить трактовки и объяснение, каково значение этих двух субпопуляций клеток памяти для адаптивного иммунитета при гриппе.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН"

Отзыв подготовлен д.б.н. Гамбарян А.С. и утвержден генеральным директором ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», д.м.н., профессором, член-корреспондентом РАН Ишмухаметовым Айдаром Айратовичем. В отзыве отмечается: актуальность темы, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна, значимость полученных данных для науки и практики, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах, рекомендации по использованию результатов диссертации.

Замечания: Оценивая диссертационную работу Лосева Игоря Владимировича однозначно положительно, считаю необходимым высказать некоторые замечания.

1. В список сокращений не внесен ряд аббревиатур, использованных автором.

2. В обзоре литературы иногда некритично приводятся очень сомнительные гипотезы, например: «По-видимому, после одного цикла репликации в человеческом организме, вирус каким-то образом теряет способность узнавать рецепторы  $\alpha$ -2,3, то есть передаваться от человека к человеку [177]».

Однако, приведенные выше замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

По объему проведенных исследований, методологическому и техническому уровню, новизне полученных результатов и научно-практической ценности представленная к защите работа полностью соответствует требованиям пункта 7 «Положения ВАК России», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.02 – вирусология.

Соискатель имеет 17 научных работ, из них – 8 статей в рецензируемых журналах ВАК Министерства образования и науки РФ.

**Публикации, содержащие основные научные результаты диссертации, опубликованные в журналах, рецензируемых ВАК:**

1. Дони́на С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Григорьева Е.П., Кузнецова С.А., Лосев И.В., Руденко Л.Г., Найхин А.Н. Локальный гуморальный иммунный ответ у больных гриппом людей и лиц, привитых против сезонных, пандемических и потенциально пандемических вирусов гриппа. // **Вопросы вирусологии** – 2013 – №3 – с. 37 – 42.

2. Кореньков Д.А. Исакова-Сивак И.Н. Кузнецова В.А. Лосев И.В. Руденко Л.Г. Найхин А.Н. Сравнительный иммуноэпитопный анализ нуклеопротеинов современных циркулирующих вирусов гриппа А и донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) для живой гриппозной вакцины. // **Фундаментальные исследования**, 2014 – №10 – с.908-912.

3. Найхин А.Н., Дониная С.А., Лосев И.В., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Стукова М.А., Ерофеева М.К., Коншина О.С., Смолоногина Т.А., Дорошенко Е.М., Григорьева Е.П., Руденко Л.Г. Гомологичный и гетерологичный гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ людей на живые реассортантные гриппозные вакцины А(H5N2) и А(H7N3). // **Медицинская иммунология**, 2015 – Т. 17, № 1. – с. 59-70.

4. Лосев И.В., Дониная С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Григорьева Е.П., Дорошенко Е.М., Руденко Л.Г., Найхин А.Н. Обнаружение у людей кроссреактивных антител и Т-клеток иммунологической памяти к антропонозным и зоонозным подтипам вируса гриппа А. // **Медицинская иммунология**, 2015. – Т. 17, № 4. – с. 351-362.

5. Найхин А.Н. Лосев И.В. Роль консервативных и гипервариабельных иммунодоминантных эпитопов внутренних белков вирусов гриппа А в формировании цитотоксического Т-клеточного иммунного ответа. // **Вопросы Вирусологии**, 2015. – Т. 60, № 1. – с. 11-16.

6. Кузнецова С.А. Исакова-Сивак И.Н. Кузнецова В.А. Петухова Г.Д. Лосев И.В. Дониная С.А. Руденко Л.Г. Найхин А.Н. Влияние точечных мутаций в генах полимеразного комплекса вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) на иммунный ответ мышей. // **Вопросы Вирусологии**, 2015, – Т. 60, №2, – с. 25-30.

7. Лосев И.В., Дониная С.А., Петухова Г.Д., Ерофеева М.К., Руденко Л.Г., Найхин А.Н. Использование метода оценки поствакцинальной секреции антител В-лимфоцитами *in vitro* для характеристики иммуногенности в клинических испытаниях резервных гриппозных вакцин А (H5N1) и А (H5N2). // **Медицинская иммунология** 2016, – Т. 18, № 2, – с. 129-138

8. Найхин А.Н., Лосев И.В., Дони́на С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Ерофеева М.К., Стукова М.А., Руденко Л.Г. Индукция долговременной Т- и В-клеточной иммунологической памяти к вирусу гриппа А (H5N1) у людей, привитых живой гриппозной вакциной А(H5N2). // **Медицинская иммунология** 2017. – Т 19, №4. – с.375-386.

Перечень 17 работ был представлен на заседании диссертационного совета Д 001.043.01 на базе ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ 03 апреля 2018 года во время защиты диссертационной работы.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. ФБУН Государственный Научный Центр Вирусологии и Биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора. Отзыв составила к.м.н., зам ген директора по научной и производственной работе Нечаева Елена Августовна. Отзыв положительный. Замечания – в автореферате имеется несколько опечаток, но они не снижают значимости излагаемого материала.

2. ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Отзыв составила д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела опасных вирусных инфекций Логинова Светлана Яковлевна. Отзыв положительный. Замечаний нет.

3. Институт вирусологии им ДИ Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Гамалеи» Отзыв составила д.м.н., зав. лаб. этиологии и эпидемиологии гриппа Е.И.Бурцева. Отзыв положительный. Замечаний нет.

4. ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины». Отзыв составил: д.б.н., профессор, вед н.с. отдела иммунологии Полевщиков Александр Витальевич. Отзыв положительный. Есть замечание и вопрос:

4.1. Замечания – Из замечаний можно отметить наличие в тексте автореферата некоторых нераскрытых сокращений, а также использование терминов, не используемых в современной иммунологии (например, понятие интенсивности гуморального иммунного ответа, таблица 7 автореферата).

4.2. Вопрос – по материалам автореферата хочется задать автору один вопрос. Из материалов таблицы 2 следует, что у разных возрастных групп в сыворотке крови отсутствуют антитела к вирусу H5N2, которые, вероятно, относятся к вирусу IgG, но при этом в слюне и секрете верхних дыхательных путей обнаруживаются кроссреактивные антитела против указанного вируса, относящиеся к классу IgA. Как автор объясняет этот парадокс, принимая во внимание, что сроки иммунологической памяти, опосредованной IgG, превышают сроки памяти, связанной с продукцией IgA.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией, заинтересованностью в тематике представленного научного исследования, собственными значительными достижениями в данной отрасли науки, наличием публикаций по теме диссертации и способностью определить научную и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы.**

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

- подтверждено наличие ряда особенностей развития поствакцинального и естественно формируемого кроссреактивного иммунного ответа к изучаемым вирусам гриппа A(H5N1), A(H5N2) и A(H2N2) у людей, ранее не контактировавших с этими возбудителями;
- впервые обоснована возможность использования отечественной резервной живой гриппозной вакцины (ЖГВ) типа A(H5N2) для защиты людей от потенциально пандемического вируса гриппа A(H5N1);
- получены новые данные об особенностях стимуляции у людей кроссреактивного адаптивного иммунитета к потенциально пандемическим вирусам гриппа A(H5N1) и A(H2N2) в условиях естественного эпидемического процесса, вызываемого актуальными вирусами гриппа A(H1N1) и A(H3N2);

- проведено приоритетное экспериментальное исследование *in vivo* способности штаммов вируса гриппа А(Н2N2) с разным набором мутаций в генах внутренних белков стимулировать разные звенья адаптивного иммунитета;

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что:

- доказано, что во время эпидемической циркуляции актуальные вирусы гриппа А(Н1N1) и А(Н3N2) индуцируют у людей, не контактировавших с вирусами гриппа А(Н5N1) и А(Н2N2), выработку кроссреактивных локальных антител к потенциально пандемическим вирусам, а также CD4+ и CD8+ Т-клеток иммунологической памяти фенотипов T<sub>cm</sub> и T<sub>em</sub>, но не сывороточных антигемагглютинирующих и вируснейтрализующих антител;

- доказано, что отечественная резервная живая гриппозная вакцина Н5N2 формирует у людей долговременную иммунологическую память к вирусу гриппа А(Н5N1);

- выявлено, что в условиях *in vivo* ряд штаммов вируса гриппа А(Н2N2) с разными мутациями в генах, кодирующих внутренние белки вируса, способны активно стимулировать Т- и В-клеточный иммунный ответ при сохранении достаточной аттенуации.

**Значение полученных соискателем результатов** исследования для практики подтверждается тем, что:

- позволяют рекомендовать применение отечественной резервной живой гриппозной вакцины Н5N2, для экстренной профилактики гриппа А(Н5N1) в случае угрозы его активного распространения среди людей;

- имеют значение для адекватной оценки по разработанной схеме иммуногенности всех конструируемых живых гриппозных вакцин против потенциально пандемических вирусов гриппа А антропонозного и зоонозного происхождения;

- применение результатов исследования по оценке состояния коллективного кроссреактивного иммунитета к потенциально пандемическим вирусам гриппа

A(H5N1) и A(H2N2) важно для осуществления прогноза эпидситуации и планирования профилактических мероприятий в случае вступления этих возбудителей в активную циркуляцию;

- получено свидетельство о внедрении метода «Технология оценки поствакцинальной секреции антител культурой В-лимфоцитов in vitro», который может быть использован в качестве дополнительного критерия оценки иммуногенности гриппозных вакцин.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила, что:

- результаты подтверждаются адекватным дизайном исследования, значительным объемом выполненных исследований, большим массивом обработанных данных, с применением соответствующих задач статистических методов, их комплексным анализом и научно обоснованной интерпретацией;

- в работе был использован широкий набор современных иммунологических и вирусологических методов, результаты получены на базе современного сертифицированного оборудования, проходящего плановую и контрольную верификацию;

**Личный вклад соискателя** заключается в участии во всех этапах иммунологических и вирусологических исследований, планировании опытов, отборе материалов, постановке лабораторных тестов, воспроизведении экспериментов на лабораторных животных, обработке, анализе и обобщении полученных материалов с последующей их публикацией и презентацией.

На заседании 03 апреля 2018 года диссертационный совет Д 001.043.01 сделал вывод о том, что диссертация «Особенности развития адаптивного иммунного ответа к вирусам гриппа А (H5N1), А(H5N2) и А(H2N2)» представляет собой научно-квалификационную работу, соответствующую требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., и принял решение присудить Лосеву Игорю

Владимировичу учёную степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 16 докторов наук по специальности 03.02.02. - вирусология, проголосовали:

За присуждение ученой степени – 15 человек,

Против присуждения ученой степени – 2,

Недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета Д 001.043.01  
доктор биологических наук

Жилинская И.Н.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 001.043.01  
кандидат биологических наук

Амосова И.В.



03 апреля 2018 г.