

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Марии Юрьевны Пахаруковой на диссертацию **Хаснатинова Максима Анатольевича «Роль генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и других клещевых патогенов в обеспечении устойчивого существования их эпидемиологически значимых природных очагов в Восточной Сибири и Монголии»**, представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность темы диссертационной работы

Высокая актуальность исследования клещевых инфекций подчеркивается в первую очередь их высокой распространенностью и стабильно высокой заболеваемостью клещевыми инфекциями среди населения. Хотя в настоящее время интенсивно ведутся работы по описанию и анализу генетического разнообразия и молекулярной биологии вируса клещевого энцефалита, однако до сих пор биологический и экологический смысл наблюдаемого генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и бактериальных инфекций остается малоизученным. Кроме того, отмечается недостаток существующих мер специфической и неспецифической профилактики клещевых инфекций и этим обусловлена необходимость разработки новых способов их контроля.

Таким образом, диссертационная работа Хаснатинова М. А. представляется весьма актуальной и востребованной работой.

Основное внимание в своей работе Максим Анатольевич сосредоточил на исследовании роли генетического разнообразия в формировании стабильных популяций патогенных для человека микроорганизмов, экологически связанных с иксодовыми клещами в экосистемах Прибайкалья и Монголии.

Для достижения поставленной цели автором был проведен большой объем исследований, направленных на оценку разнообразия и распространенности вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и возбудителей наиболее актуальных бактериальных инфекций в экосистемах Восточной Сибири и Монголии; выявление генетических детерминант ВКЭ, ассоциированных с такими признаками, как специфичность по

хозяину, вирулентность для животных и человека. Задачи исследования также включали создание набора рекомбинантных штаммов ВКЭ с помощью метода направленного мутагенеза, сравнение эффективности рекомбинантных и контрольных штаммов ВКЭ в культурах клеток млекопитающих, в лабораторных линиях клещей и в мышевидных грызунах.

Основные результаты выполненной работы, их достоверность и научная новизна

В рамках работы автором было изучено разнообразие ВКЭ и бактериальных патогенов, инфицирующих иксодовых клещей в Прибайкалье и Монголии. Кроме того, было расшифровано и проанализировано более 100 нуклеотидных последовательностей вируса клещевого энцефалита, *B. burgdorferi sensu lato* и других клещевых микроорганизмов. Изучена циркуляция ряда искусственно созданных штаммов вируса клещевого энцефалита, содержащих как точечные мутации в биологически значимых доменах поверхностного белка Е вируса клещевого энцефалита, так и крупные фрагменты генома штамма вируса клещевого энцефалита гетерологичного сибирского субтипа.

Автору удалось создать рекомбинантные штаммы вируса клещевого энцефалита сибирского и европейского субтипов, содержащие гетерологичные структурные гены Е, ргМ-Е и С-ргМ-Е. В работе была доказана их жизнеспособность, охарактеризован их жизненный цикл в культуре клеток млекопитающих и иксодовых клещах и количественно определена эффективность их неvirемической трансмиссии между клещами *Ixodes ricinus*.

Автором также впервые продемонстрировано, что вирулентность вируса клещевого энцефалита для клеток млекопитающих определяется свойствами неструктурных генов вируса, а патогенность для лабораторных мышей – свойствами структурных белков. Кроме того, Максиму Анатольевичу удалось продемонстрировать, что мутации в структурном гене Е существенно модифицируют патогенетические характеристики вируса клещевого энцефалита, в частности, точечные мутации в критических аминокислотных позициях белка Е вызывают сдвиг заряда и/или гидрофобности поверхности вириона вируса клещевого энцефалита и приводят к повышению эффективности репродукции и

невиремической трансмиссии вируса клещевого энцефалита в клещах *Ixodes ricinus*.

Все вышесказанное ясно указывает на новизну и научную ценность полученных результатов.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Хаснатинова М. А. построена по классической схеме. Она состоит из введения, двух глав обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения и выводов, списка литературы. Работа изложена на 256 страницах, иллюстрирована 38 рисунками и 17 таблицами. Список использованной литературы содержит 411 источников.

Раздел «Введение» содержит все необходимые подразделы: «Актуальность темы исследования», «Степень разработанности», «Цели и задачи», «Научная новизна», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Методология и методы исследования», «Положения, выносимые на защиту», «Степень достоверности и апробация работы». В целом, глава «Введение» написана убедительно, все положения хорошо обоснованы.

Обзор литературы посвящен современному состоянию исследований разнообразия клещевых инфекций, их экологическим и биологическим особенностям. Кроме того, в обзоре литературы освещены основные вопросы и представления о разнообразии клещевых инфекций, в частности внимание уделяется вирусу клещевого энцефалита, микроорганизмам *Borrelia burgdorferi sensu lato* и микроорганизмам порядка Rickettsiales.

Глава «Материалы и методы» содержит описание большого перечня разнообразных методов исследований: от зоолого-паразитологических (учеты численности, отлов, определение видовой принадлежности иксодовых клещей и мелких млекопитающих), вирусологических и микробиологических (изоляция ВКЭ в культуре клеток, изоляция боррелий в культуральной среде BSK-H и др.) до молекулярно-генетических и биохимических технологий (секвенирование генов и молекулярное клонирование фрагментов генома вирусов и бактерий). Нужно отметить, что при выполнении работы Максим Анатольевич продемонстрировал

умение комбинировать различные методические подходы, что позволило ему получить большой объем взаимно дополняющих данных о генетическом разнообразии патогенных для человека микроорганизмов, экологически связанных с иксодовыми клещами в экосистемах Прибайкалья и Монголии, а также о влиянии мутаций в структурных и неструктурных генах в геноме вируса на устойчивость циркуляции вируса ВКЭ в природе.

Глава «Результаты» хорошо иллюстрирована, все рисунки и таблицы понятны и полностью соответствуют полученным результатам.

Тем не менее к работе есть несколько замечаний:

1. Цель исследования сформулирована нечетко, выглядит громоздкой и содержит, на взгляд оппонента, избыточную информацию. Кроме того, формулировка цели не предполагает в явном виде третьей и четвертой задачи исследования.
2. В тексте диссертации не прослеживается строгой логической связи между задачами, выводами и положениями, выносимыми на защиту. Так, пять поставленных задач исследования, реализуются в шесть положений, выносимых на защиту и девять выводов. Следует отметить, что вывод 1 и положение 1 удивительно похожи.
3. В тексте диссертации встречаются опечатки и неудачные выражения.

Тем не менее, обозначенные выше недостатки изложения диссертации не портят общее впечатление о выполненной работе и не могут повлиять на ее окончательную оценку.

Заключение

Следует отметить высокий методический уровень проведенного исследования. Совокупность представленных экспериментальных данных и теоретических положений позволяет квалифицировать работу Хаснатинова М.А. как крупное событие в области молекулярной вирусологии. В целом, диссертационная работа производит впечатление добротного и качественного исследования, выполненного на достаточном по объему материале с привлечением корректных методологических подходов. Направление выполненного

исследования и его содержание соответствует выбранной специальности. Содержание автореферата соответствует материалам, представленным в диссертации, и полностью отражает суть проведенного исследования.

Хаснатинов М.А. представил материалы, изложенные в работе, на 8 российских и 10 международных конференциях, список опубликованных работ по теме диссертации состоит из 31 пункта. Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов диссертации не вызывают сомнений. Автор хорошо владеет современной литературой по тематике, задачи исследования были полностью решены.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, критериям пунктов 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, с изменениями постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», а ее автор, Максим Анатольевич Хаснатинов, заслуживает искомой степени доктора биологических наук по специальности «03.02.02 – вирусология».

Официальный оппонент:

Пахарукова Мария Юрьевна

доктор биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
г. Новосибирск, 630090, проспект Лаврентьева 10
тел. (383) 363-49-63 (2210), E-mail: pmaria@yandex.ru

Подпись д-ра биол. наук Пахаруковой М.Ю. заверяю
Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН
Орлова Галина Владимировна, к.б.н.

