



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ФГБНУ

«ФНДИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

А.А. Ишмухаметов

«26» *сентября* 2019 год.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

**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", представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.**

Работа М.А. Хаснатинова выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ). Диссертация представлена в форме машинописного труда объемом 256 страниц и автореферата объемом 46 страниц. По теме диссертации опубликованы 31 статья и методические рекомендации в период 2001-2018 гг. В диссертации в семи главах представлена совокупность результатов исследований, проведенных лично автором.

### Актуальность проблемы

Диссертация М.А. Хаснатинова посвящена 5 природно-очаговым инфекциям, переносимым клещами, среди которых особое место занимает клещевой энцефалит. После небывалого подъема заболеваемости в России в 90-е годы уровень заболеваемости КЭ снизился, однако остаётся значительным последние 15 лет, в том числе в Иркутской области, где в основном проводились исследования диссертанта. Проблема КЭ весьма актуальна для России, европейских стран, где ареал инфекции расширяется, а также для ряда азиатских стран. Свидетельством значения данной проблемы является выпуск международной монографии «Tick-Borne Encephalitis (TBE)» (second edition), изданной в 2019 г., где представлено состояние знаний по фундаментальным и практическим аспектам проблемы.

### Значение диссертационной работы

Из названия диссертации, её структуры и содержания следует, что главным в проведенном исследовании является значение фактора генетического разнообразия вируса

КЭ и других инфекций, переносимых клещами, в обеспечении устойчивого существования природных очагов.

Генетическое разнообразие вируса КЭ по многим фенотипическим признакам неоднократно описывалось. В работе автора расширяется представление о генетическом разнообразии не только за счёт существования разных субтипов и генетических вариантов вируса внутри субтипов, но и за счёт функций вируса, значению которых ранее не уделялось внимания. Автор рассматривает генетическое разнообразие вируса КЭ как механизм сохранения вируса в природе, устойчивости природных очагов, с чем связаны эпидемиологические аспекты проблемы.

1. Полученные результаты соответствуют поставленным целям и задачам. Проведенная диссертантом работа и её результаты важны не только для высокоэндемичной территории России (Иркутская область), но и для территории Монголии. Результаты работы имеют практическое значение в разработке современных способов контроля патогенов и профилактики вызываемых ими заболеваний.

2. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

3. Содержание опубликованных работ соответствует содержанию диссертации.

4. Тема диссертации соответствует научной специальности 03.02.02- вирусология.

5. Материал изложен чётко, стилем, принятым для научных публикаций в журналах и монографиях.

#### **Положения, выносимые на защиту, их обоснованность и отражение в публикациях**

**Положение 1.** В Восточной Сибири и Монголии циркулирует широкий спектр клещевых патогенов, который включает вирус клещевого энцефалита и другие бактериальные инфекции, характеризующиеся полиморфизмом первичной структуры геномов.

В основе этого положения лежат исследования вирусологического и молекулярно-генетического характера, проведенные в Республике Монголии, Республике Бурятия, Иркутской области, Красноярском крае. Результаты отражены в главе IV данной диссертации и в 12 публикациях 2002-2012 гг. в российских и зарубежных журналах.

**Положения со 2 по 6** характеризуют мутации в геноме вируса КЭ, ответственные за утрату гемагглютинирующей активности, вирулентность, неvirемическую трансмиссию между заражёнными и незаражёнными клещами, а также влияние эффективности неvirемической трансмиссии среди местных популяций клещей на устойчивость природных очагов КЭ. Результаты, полученные в процессе обследования 3654 клещей, а



также образцов сывороток крови больных людей и людей, обратившихся по поводу укусов клещей; а также штаммов и образцов РНК ВКЭ, отражены в 4 публикациях 2009-2016.

### **Научная новизна**

1. Генетическое разнообразие патогенов, переносимых клещами, в Восточной Сибири и Монголии. Существование КЭ в Монголии было известно в 1990 г. Диссертантом впервые установлено существование единых популяций на территории Восточной Сибири и Монголии, а также генетическое разнообразие как вируса КЭ, так и других переносимых клещами патогенов, на территории Монголии.
2. Диссертанту принадлежит приоритет в доказательстве опасности для человека генетического варианта вируса КЭ 886-84 путём изоляции от умершего человека вируса и его молекулярно-генетического анализа. Результаты работы имели решающее значение при выделении штаммов типа 886-84 в самостоятельный субтип вируса КЭ, получивший наименование «байкальский – забайкальский».
3. Впервые экспериментально созданы рекомбинантные штаммы сибирского и европейского субтипов, охарактеризован их жизненный цикл в культуре клеток млекопитающих и иксодовых клещах и количественно определена эффективность их невяремической трансмиссии между клещами.
4. Впервые показано, что эффективность невяремической трансмиссии зависит от точного соответствия целого региона генома специфичному виду клеща. Такие данные ранее в литературе отсутствовали.
5. Впервые определён порог эффективности невяремической трансмиссии (27%), влияющий на устойчивость циркуляции ВКЭ европейского подтипа в популяциях *I. ricinus*. Данные являются приоритетными.

### **Анализ достоверности выводов**

1. Утверждается единообразие генетических вариантов ВКЭ и возбудителей бактериальных инфекций на территории Восточной Сибири и Монголии. Вывод обоснован результатами проведенных исследований.

2. Утверждается стабильность природных популяций ВКЭ и возбудителей бактериальных инфекций, обусловленная генетическими вариантами этих возбудителей, соответствующими определённым эколого-географическим районам. Вывод достоверен и обоснован результатами проведенной работы.

3. Вывод, касающийся циркуляции штаммов типа 886-84 и их патогенности для человека. Иммунологическая характеристика штаммов типа 886-84 проведена до автора, молекулярно-генетическая характеристика проведена В.И. Злобиным и др. при участии автора диссертации. М.А. Хаснатинов впервые установил патогенность штамма 886-84 для человека путём изоляции от умершего пациента в Монголии и генотипирования штамма.

4. Утверждается, что мутации в позициях белка Е ВКЭ у всех субтипов вируса КЭ дают одинаковый результат (утрата антигенной активности, изменение заряда, повышение неvirемической трансмиссии), что в конечном счёте влияет на устойчивость природных популяций. Вывод обоснован результатами проведенных исследований.

5. Доказано, что в системе европейский подтип ВКЭ – клещи *I. ricinus* эффективная неvirемическая трансмиссия возможна только при точном соответствии определённого региона вирусного генома специфичному виду клеща. В основе вывода лежат экспериментальные исследования.

6. Не вызывает возражений вывод №9 о том, что эндемичными для Восточной Сибири и Монголии являются эволюционные линии «Васильченко» и «886-84», и их циркуляция является стабильной.

7. В выводах №7 и №9 содержатся предположения, которые, как правило, в выводах не отражаются.

### **Замечания и вопросы по диссертации М.А. Хаснатинова**

По рассматриваемой диссертации имеются вопросы дискуссионного характера или связанные с неполной информацией.

1. При характеристике генетической гетерогенности боррелий не отмечен возбудитель безэритемной формы заболевания *Borrelia miyamotoi*. Остаётся неясным, проводилась ли лабораторная диагностика в отношении данного возбудителя?

2. Механизм неvirемической трансмиссии ВКЭ. В обзоре литературы показано, что в единичных работах А.Н. Алексева, С.П. Чунихина (1990,1992), В.Р. Галимова (1989), а также Labuda M. (1993,1997) описана возможность неvirемической передачи вируса КЭ, обозначаемой также терминами «дистантная» или «несистемная» трансмиссия. Кратко описан механизм этой передачи, особенностью которой является возможность передачи вируса независимо от имеющегося иммунитета в организме млекопитающего.

В диссертации М.А. Хаснатинова данному феномену дистантной трансмиссии ВКЭ уделено большое внимание, в связи с чем возникает вопрос, была ли автором получена дополнительная информация о механизмах реализации этого способа передачи инфекции?



3. В диссертации определены количественные показатели частоты неvirемической трансмиссии для системы ВКЭ европейского подтипа и клещей *I. ricinus*: при частоте 27% и выше формируются стабильные очаги инфекции. Имеются ли аналогичные данные, касающиеся системы дальневосточный или сибирский субтипы, генетические варианты 886-84 и клещей *I. persulcatus*?

4. Каково соотношение virемической и неvirемической трансмиссии ВКЭ в естественных условиях?

5. Термин «клещевые патогены» недостаточно корректен. Более точным является определение «возбудители, передающиеся клещами».

6. Имеются отдельные стилистические неточности. В оглавлении не выделен раздел «Обзор литературы».

### **Теоретическое и практическое значение работы**

В диссертации определено новое крупное научное направление «Роль генетической гетерогенности ВКЭ как механизма сохранения вируса в природе и поддержания стабильности природных очагов». Результаты исследования теоретически обосновывают важность направленного блокирования взаимодействия поверхностных белков ВКЭ с клетками хозяина в естественных популяциях клещей, что нарушит процесс неvirемической трансмиссии клещевых микроорганизмов и приведёт к существенному снижению заражённости клещей ВКЭ в природе. Выявленные механизмы влияния генетического разнообразия на формирование устойчивых популяций могут быть применимы к другим природно-очаговым инфекциям и микроорганизмам.

В результате исследований разработаны и внедрены в практику несколько специфических компьютерных программ и баз данных, что подтверждено свидетельствами и патентами. Результаты данной работы используются в процессе подготовки студентов Иркутского государственного университета и Иркутской государственной сельскохозяйственной академии.

Итоги совместных исследований внедрены в государственные стандарты эпидемиологического надзора, диагностики и лечения клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза в Монголии. Получено три патента Республики Монголия.

Заявленная теоретическая возможность снижения уровня неvirемической трансмиссии ВКЭ нуждается в дальнейшем исследовании.

Учитывая научную новизну проведенных исследований, их теоретическое и практическое значение, автору целесообразно материалы диссертационной работы оформить в виде монографии с основным вниманием к клещевому энцефалиту.

## Заключение

М.А. Хаснатиновым на основании проведенных молекулярно-генетических исследований установлено, что генетическая гетерогенность ВКЭ и возбудителей других инфекций, переносимых клещами является фактором, способствующим существованию возбудителей в природе, устойчивости природных очагов, что имеет важное эпидемиологическое значение. Автором впервые показано генетическое разнообразие патогенов, переносимых клещами в Восточной Сибири и Монголии. Диссертанту принадлежит приоритет в доказательстве опасности для человека генетического варианта ВКЭ 886-84, что способствовало выделению штаммов типов 886-84 в самостоятельный субтип ВКЭ. Впервые показано, что эффективность неvirемической трансмиссии зависит от точного соответствия целого региона генома специфичному виду клеща. Впервые определён порог эффективности неvirемической трансмиссии (27%), влияющий на устойчивость циркуляции ВКЭ европейского подтипа в популяциях *I. ricinus*. Большое значение имеет теоретически обоснованная важность направленного блокирования взаимодействия поверхностных белков ВКЭ с клетками хозяина в естественных популяциях клещей, что нарушит процесс неvirемической трансмиссии клещевых микроорганизмов и приведёт к существенному снижению заражённости клещей ВКЭ в природе. Выявленные механизмы влияния генетического разнообразия на формирование устойчивых популяций могут быть применимы к другим природно-очаговым инфекциям и микроорганизмам.

Таким образом, диссертация Хаснатинова Максима Анатольевича является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, а так же решена научная проблема, имеющая важное практическое значение, что соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утверждённых Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – Вирусология.

Отзыв обсужден на межлабораторном заседании отдела природно-очаговых вирусных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения



«Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Протокол № 7 от «25» ноября 2019 года).

Отзыв составил:

Главный научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов

д.м.н., профессор

e-mail: pogodina\_vv@chumakovs.ru

 В.В. Погодина

Подпись В.В. Погодиной удостоверяю

Ученый секретарь

ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

к.б.н.

«26» ноября 2019 года





А.В. Белякова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»)

Адрес: поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1, город Москва, 108819

Тел./факс (495) 841-90-02; (495) 549-67-60; (495) 841-93-21

E-mail: sue\_polio@chumakovs.ru

<http://www.chumakovs.ru>