

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ФГАНУ
«Федеральный научный центр
исследований и разработки
иммунобиологических препаратов
им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

А.А. Ишмухаметов
«12» августа 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения
«Федеральный научный центр исследований и разработки
иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита).

Диссертация Тучинской Ксении Константиновны на тему: «Влияние неинфекционных частиц вируса клещевого энцефалита на иммунный ответ и эффективность противовирусных препаратов» по специальности 1.5.10 - «Вирусология» выполнена в лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Тучинская Ксения Константиновна с 2015 года работала в ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАН» в должности лаборанта-исследователя, а с 2016 года - в должности младшего научного сотрудника.

С 2019 года Тучинская К.К., выйдя из отпуска по уходу за ребенком, работает по настоящее время в должности научного сотрудника лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В 2014 году Тучинская К.К. окончила с красным дипломом Донецкий национальный университет (присуждена квалификация магистра по специальности - «Биохимия»). По окончании университета она работала в Институте физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко в должности инженера 1 категории.

В 2014 году Тучинская К.К. поступила в очную академическую аспирантуру ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН» по направленности (профилю) 03.02.02. – «Вирусология» (Справка о сдаче кандидатских экзаменов и об окончании очной аспирантуры № 23 от 24 января 2022 г. выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научный руководитель диссертации – Карганова Галина Григорьевна, профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биологии арбовирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность работы.

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) – это переносимый клещами флавивирус, который широко распространен в Европе и Азии. Только в Российской Федерации на эндемичных территориях по заболеваемости людей клещевым энцефалитом (КЭ) проживает более 60 миллионов человек, при этом границы его распространения постоянно расширяются. ВКЭ способен вызывать тяжелое заболевание с поражением центральной нервной системы. Несмотря на наличие эффективных инактивированных цельновирионных вакцин, случаи заболевания КЭ регистрируются ежегодно, в том числе и с тяжелым течением заболевания, очевидно вследствие недостаточного охвата населения вакцинацией. Кроме того, регистрируются и единичные случаи заболевания КЭ среди вакцинированных людей.

Помимо генетической, вирусам присуща и структурная гетерогенность. Так, было показано, что в процессе инфекции образуются различные по своей структуре, чаще всего, неинфекционные вирусные частицы (ВЧ). Они способны вызывать активацию врожденного иммунного ответа, участвовать в формировании специфического иммунного ответа, а также индуцировать протективный иммунный ответ и быть ответственными за более тяжелое течение заболевания или за его хронизацию.

В процессе репродукции флавивирусов образуется целый ряд различных структур, включая: инфекционные зрелые ВЧ с полноценным геномом, ВЧ с дефектным геномом, которые, тем не менее, “одеты” в полноценную зрелую вирусную оболочку, неинфекционные ВЧ с дефектами

структуры оболочки и полноценным вирусным геномом, незрелые вирионы, пустые формы без нуклеокапсида, а также свободный белок Е.

Неинфекционные ВЧ могут отличаться по своим антигенным детерминантам от зрелых инфекционных вирионов. Известно, что конформация поверхностного гликопротеина флавивирусных частиц довольно подвижна и при определенных условиях (изменение температуры или рН среды) открываются ранее недоступные эпитопы, а ВЧ могут приобретать «тупиковую» конформацию, теряя при этом способность к инфицированию клеток.

Все эти формы изучены, в основном, с точки зрения их поверхностной структуры, однако, данных по их влиянию на течение флавивирусной инфекции и формированию иммунного ответа к настоящему времени ещё не получено.

Важным, мало проработанным аспектом изучения структурной гетерогенности вирусной популяции является также и возможность ее влияния на эффективность профилактических и лечебных препаратов, направленных на взаимодействие с поверхностным гликопротеином флавивирусов. Остаются невыясненными и факторы, определяющие структурную гетерогенность.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Автором проведен анализ литературы, изучена степень разработанности проблемы с определением цели, задач исследования и его дизайна. Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор лично провёл статистическую обработку, сформулировал основные положения и выводы диссертации. Лично или с участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. В целом, личный вклад в выполнение творческой части исследования – в пределах 85%.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных в ходе работы данных определяется достаточным числом исследований, длительным сроком наблюдений, комплексным подходом к проведению исследований, выполненным с использованием современных методов и статистической обработки полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют

цели и задачам работы. Материалы исследования были представлены и обсуждены на следующих 9 международных и отечественных конференциях: Конференция молодых ученых и специалистов «Биология, эпидемиология и вакцинопрофилактика инфекционных заболеваний» (Москва, 2016); Конференция молодых ученых и специалистов «Фундаментальная и прикладная микробиология» (Москва, 2017); Научно-практическая конференция молодых ученых «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний» (Москва, 2018); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов 2019» (Москва, 2019); Международная научная конференция «Ломоносов 2020» (Москва, 2020); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2021); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов 2022» (Москва, 2022).

Научная новизна.

Впервые было показано, что доля неинфекционных ВЧ в популяции ВКЭ зависит от штамма вируса. Система репродукции, условия и длительность хранения вирусного материала оказывают влияние на количественное содержание неинфекционных ВЧ в популяции ВКЭ.

Впервые показано, что при увеличении доли неинфекционных ВЧ наблюдается более мощный гуморальный иммунный ответ, не влияя при этом на течение заболевания.

Впервые установлено, что при инфицировании животных, вакцинированных цельновирионной вакциной КЭ, препаратом вируса с повышенной долей неинфекционных ВЧ, наблюдаются изменения бустерного ответа и спектра индуцируемых антител.

Впервые в результате изучения особенностей формирования иммунного ответа при инфицировании животных препаратом незрелого ВКЭ было установлено, что антитела к незрелому вирусу быстрее элиминируются и не обеспечивают защиту от повторного заражения ВКЭ.

Впервые были получены данные, свидетельствующие о том, что в ответ на заражение препаратом незрелого вируса экспандированные клоны Т-клеток имеют как схожие со зрелым вирусом, так и отличные репертуары участков, определяющих их комплементарность (complementarity-determining regions (CDRs)).

Впервые в экспериментах *in vitro* было показано, что неинфекционные

ВЧ, являясь дополнительными мишенями, могут негативно влиять на нейтрализующую активность антител и эффективность противовирусных соединений, направленных на взаимодействие с поверхностным белком Е.

Практическая значимость.

Получены новые данные, имеющие важное значение для успешной разработки профилактических и лечебных препаратов, включая природу соотношения неинфекционных и инфекционных ВЧ ВКЭ и влияния неинфекционных ВЧ на течение инфекции, а также их участия в формировании иммунного ответа при КЭ. Доказана способность неинфекционных ВЧ выступать в роли дополнительных мишеней как для противовирусных препаратов, так и для нейтрализующих антител *in vivo* и *in vitro*, что повышает перспективность стандартизации методов проведения соответствующих анализов.

Научная специальность, которой соответствует диссертация.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10. – «Вирусология». Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 2, 7, 10 паспорта специальности «Вирусология».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Основные результаты работы полностью отражены в печати. По теме диссертации опубликованы 4 печатные работы в рецензируемых научных изданиях, а также 6 тезисов в сборниках Международных конференций и 3 тезиса - в сборниках Российских конференций.

Общее заключение.

Диссертация соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14, установленным Положением «О порядке присуждения ученых степеней», утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №650 от 29.05.2017 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям и является законченной научно-квалификационной работой. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные данные и не содержит заимствованного

материала без ссылки на авторов. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных практическими методами данных с теоретическими заключениями.

Диссертация «Влияние неинфекционных частиц вируса клещевого энцефалита на иммунный ответ и эффективность противовирусных препаратов» Тучинской Ксении Константиновны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Заключение принято на заседании научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Присутствовало на заседании 14 членов комиссии, имеющих ученую степень, из 21 списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 14 членов комиссии,

«Против» – нет,

«Воздержалось» – нет.

Протокол заседания № 1 от 18 июля 2022 г.

Председатель научной экспертной комиссии,
руководитель научного направления учреждения
профессор, д.м.н.

Евгений Александрович Ткаченко

Секретарь научной экспертной комиссии,
ученый секретарь
к.б.н.

Алла Владимировна Белякова

Подписи проф., д.м.н. Ткаченко Е.А., к.б.н. Беляковой А.В. удостоверяю.

Заместитель начальника управления персоналом

ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

(Институт полиомиелита)



А.И. Симакова

«18» августа 2022