

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального бюджетного
учреждения науки «Тюменский



научно-исследовательский институт
краевой инфекционной патологии»

Роспотребнадзора

доктор медицинских наук, профессор
Гатьяна Федоровна Степанова

« 06 » марта 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертационной работы Соловарова Иннокентия Сергеевича на тему «Использование экстрактов растений и днк-аптамеров в качестве источников новых препаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении вируса клещевого энцефалита», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология

Актуальность диссертационного исследования

Клещевой энцефалит - природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией, с поражением серого вещества головного мозга (энцефалит), и/или оболочек головного и спинного мозга (менингит и менингоэнцефалит). Инфицирование человека вирусом КЭ происходит во время кровососания голодных вирусофорных клещей. Передача вируса клещевого энцефалита может происходить в первые минуты присасывания вирусофорного клеща к человеку. Возбудитель КЭ является нейротропным вирусом, первоначально он реплицируется в дендритных клетках, макрофагах, лимфоидных тканях, селезенке и других органах. Позднее вирус получает доступ к центральной нервной системе, что приводит к серьезным нарушениям двигательной и умственной активности. В настоящее время не существует специфических противовирусных препаратов к вирусу клещевого

энцефалита (ВКЭ). А единственно одобренным средством для лечения и профилактики клещевого энцефалита являются донорские иммуноглобулины G. Препараты иммуноглобулинов обладают рядом существенных недостатков, в связи с чем их применение разрешено не во всех странах. Поэтому поиск и идентификация новых противовирусных молекул к ВКЭ несет в себе фундаментальную и практическую значимость. Проведенное исследование может стать основой для получения новых противовирусных компонентов к ВКЭ, а также обогащает вирусологическую науку о способах получения новых молекул ингибиторов.

Таким образом, диссертационная работа Соловарова Иннокентия Сергеевича, посвященная изучению использования экстрактов растений и ДНК-аптамеров в качестве источников новых препаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении вируса клещевого энцефалита, является актуальной, перспективной, соответствует научным направлениям вирусологии, и представляет научный теоретический и практический интерес.

Целью данной диссертационной работы было получение новых молекул с ингибирующими свойствами в отношении вируса клещевого энцефалита из экстрактов растений и в библиотеках ДНК-аптамеров. Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**: **1.** Сформировать панель перспективного растительного сырья для проведения исследования, оценить противовирусную активность водных растительных экстрактов в отношении вируса клещевого энцефалита *in vitro*. **2.** С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии провести фракционирование экстракта, проявившего наибольшую противовирусную активность и определить фракции, обладающие прямым вирулицидным действием. **3.** С помощью масс-спектрометрического анализа активных фракций идентифицировать кандидатные компоненты, обуславливающие вирулицидное действие экстракта и оценить вирулицидные свойства идентифицированных компонентов в химически чистой форме. **4.** Сформировать библиотеку вырожденных ДНК-аптамеров, провести отбор аптамеров к вирусу клещевого

энцефалита с помощью технологии систематической эволюции лигандов с экспоненциальным обогащением (SELEX), оценить аффинность обогащенного пула, установить нуклеотидную последовательность аптамеров после проведенного отбора к вирусу и оценить прямые вирулицидные свойства синтетических олигонуклеотидов.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы

Показано, что водные экстракты трех выбранных лекарственных растений обладают достоверным вирулицидным действием к ВКЭ (*H. erectum*, *T. chebula*, *P. bistorta*). Идентифицированы, три компонента (пуникалагин, тригаллоил глюкоза и корилагин), которые отвечают за вирулицидное действие наиболее активного водного экстракта (*T. chebula*) к ВКЭ. Проведено подтверждение потенциально идентифицированных компонентов, а также осуществлена сравнительная оценка идентифицированных противовирусных компонентов. В ходе работы выявлено, что разработанный автором метод очистки и идентификации активных компонентов эффективен и для получения новых противовирусных препаратов. Результаты исследования позволили автору подать заявки на регистрацию противовирусного действия выявленных компонентов (регистрационные номера Роспатента № 2022124073 от 09.09.2022, № 2022127567 от 24.10.2022, № 2022124073 от 09.09.2022).

Автором проведена работа по подбору и адаптации методов селекции аффинных ДНК-аптамеров к частицам ВКЭ из неочищенных вирусных суспензий.

Оценка содержания диссертационной работы

Работа Соловарова И.С. написана по стандартному плану «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список использованных сокращений» и «Список литературы».

В разделе «Введение» соискатель раскрывает актуальность работы, формулирует цель и задачи исследования, обосновывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, формулирует

положения, выносимые на защиту, приводит публикации, сведения об апробации результатов и личный вклад автора.

Раздел «Обзор литературы» состоит из трех основных частей и включает подразделы. В первой части автор дает общую информацию о вирусе клещевого энцефалита. Во второй части раскрывается современное состояние молекул-ингибиторов, получаемых на основе растений, третья часть посвящена аптамерам. Обзор литературы написан, структурировано и логично, что указывает на понимание соискателем проблематики исследуемой темы.

«Материалы и методы» содержат детальное описание условий экспериментов, что позволяет в точности воспроизвести использованные методы. При этом автор использовал большой набор разнообразных методов исследований (молекулярно-биологических, биохимических, вирусологических, статистических и др.), что говорит о качестве и надежности получаемых результатов. Можно отметить, что достоверность результатов исследования надежно подкрепляются таким высокоточным методом исследования, как масс-спектрометрия.

Большую часть раздела «Результаты и обсуждение» занимает описание результатов выделения и идентификации противовирусных компонентов из водных экстрактов растений. Следует отметить, иллюстрации результатов понятны и доступны для восприятия. Результаты работ по получению аптамеров представлены в меньшей степени.

«Заключение» представляет собой краткий итог о проделанной работе и полностью отражает раздел «Результатов». Раздел «Выводы» логично вытекают из полученных результатов исследования и в целом отвечают поставленным задачам. «Список литературы» включает 396, из них 53 – на русском языке, 343 – на иностранных языках.

Подводя итог можно отметить, что: 1. Результаты диссертационной работы соответствуют поставленным целям и задачам. Полученные данные о вирулицидном действии водных экстрактов и идентифицированных компонентах расширяют арсенал существующих противовирусных

компонентов в отношении ВКЭ. 2. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию текста диссертации. 3. Опубликованные труды по теме диссертации отражают ее основное содержание. 4. Выбранная тема диссертации соответствует шифру научной специальности 1.5.10 – вирусология. 5. Рукопись диссертации написана понятным научным языком, в котором прослеживается логичность повествования и последовательность изложения материала. В результате от работы остается хорошее впечатление.

Принципиальных замечаний по работе нет.

Диссертация Соловарова И.С. выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ). Диссертация представлена в виде машинописного труда объемом 159 страниц и автореферата объемом 23 страницы, включает 34 рисунка и 1 таблицу. Исследование обладает новизной, теоретическим и практическим значением и направлено на получение новых противовирусных молекул, способных к ингибированию вирус клещевого энцефалита из экстрактов растений и технологии ДНК-аптамеров. В диссертации представлены результаты исследований, полученные лично автором или при его непосредственном участии. По теме диссертации опубликовано 7 научных трудов, в том числе 5 – в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, из которых 2 – в журналах, индексируемых в БД Web of Science. Основные результаты работы доложены и обсуждены на российских и зарубежных научных конференциях.

Заключение. Диссертационная работа Соловарова Иннокентия Сергеевича «Использование экстрактов растений и ДНК-аптамеров в качестве источников новых препаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении вируса клещевого энцефалита», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология, является завершенной научно-квалификационной работой. По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости результатов, объему и методическому уровню проведенных

исследований представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 426 от 20.03.2020, № 1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а её автор, Соловаров Иннокентий Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Отзыв на диссертационную работу Соловарова Иннокентия Сергеевича заслушан и одобрен на заседании Ученого совета Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора (Протокол №4 от 04.03.2024).

Отзыв составил:

главный научный сотрудник лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора

доктор медицинских наук  Катаева Любовь Владимировна
E-mail: info@tნიიკიპ.როსპოტრეზნადზორ.რუ

Подпись Катаевой Любовь Владимировны заверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора

кандидат биологических наук  Бакштановская Ирина Владимировна

«06» марта 2024 г.



Сведения о ведущей организации: Наименование организации – Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора)

Почтовый адрес: 625026, г. Тюмень, ул. Республики, д. 147, ТНИИКИП

Телефон: +7(3452)28-99-92, +7(3452)28-99-93, +7(3452)28-99-94

Адрес официального сайта: tნიიკიპ.როსპოტრეზნადზორ.რუ

Электронная почта: info@tნიიკიპ.როსპოტრეზნადზორ.რუ