

### **Отзыв официального оппонента**

на диссертационную работу **Кашириной Елены Игоревны** по теме:

«Разработка системы гипоаллергенной упаковки белков в полимерный матрикс», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

#### **Актуальность темы выполненной работы**

Диссертация Кашириной Елены Игоревны посвящена разработке безопасной и эффективной терапии аллергии на основе капсулированных в полисахаридный биосовместимый матрикс (наночастицы) аллергенов.

Актуальность исследования обуславливается тем, что число аллергических заболеваний значительно увеличивается с каждым годом, и поиск новых препаратов для лечения аллергии становится одной из важнейших задач биотехнологии, а также фундаментальной и прикладной медицины.

Единственным существующим на данный момент патогенетическим методом лечения аллергии является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ), обладающая рядом недостатков: продолжительность лечения, наличие побочных эффектов, низкая эффективность и др., что определяет низкий интерес к прохождению такого лечения среди населения и доказывает важность и необходимость разработки других препаратов.

В диссертационной работе Кашириной Елены Игоревны была предложена новая концепция получения препаратов для АСИТ, представляющая собой упаковку основных рекомбинантных белков-аллергенов в оболочку из биосовместимых биоразлагаемых нетоксичных полимеров, а именно различных модификаций хитозана и альгината. Последующие опыты, описанные в работе, показали, что капсулирование белков-аллергенов предотвращает контакт антител класса E (IgE) с белком,

но сохраняет иммуногенность белка, что может быть использовано как для АСИТ, так и для создания вакцин с любыми белками и пептидами. В работе были получены капсулированные вакцины на основе рекомбинантных аллергенов из клещей домашней пыли *D. farinae* и грибов *A. fumigatus*, была показана способность однослойной упаковки аллергенов значительно снижать распознавание IgE, а двухслойной упаковки – полностью блокировать распознавание. В экспериментах *in vivo* была определена иммуногенность капсулированных белков. Было также показано, что иммунизация в мышинной модели аллергии капсулированными аллергенами безопасна и вызывает формирование IgG антител после 3-х иммунизаций, что значительно быстрее, чем при проведении традиционной АСИТ. Впервые показано в мышинной модели, что индукция IgG к аллергенам значительно снижает респираторные проявления аллергической реакции и приводит к снижению IgE, как это наблюдается при проведении АСИТ в клинике.

Диссертационная работа Кашириной Елены Игоревны является цельным, самостоятельным научным исследованием, в котором впервые предложен способ получения безопасных и эффективных препаратов для АСИТ. Диссертация представляет значительный интерес для практического здравоохранения, так как предложенный метод капсулирования может быть использован для разработки препаратов для терапии реакции на любые аллергены.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа Кашириной Е.И. написана по традиционной форме и включает в себя введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов, заключение, выводы, библиографический список (245 наименований) и список сокращений. Работа изложена на 149 страницах, иллюстрирована 41 рисунком и 7 таблицами. Литературный обзор посвящен обобщению последних имеющихся в научной литературе данных касательно видов аллергии, механизме её возникновения,

основных аллергенов и методов лечения, а так же описаны полимеры хитозан и альгинат, их применение, свойства, описаны методы получения модифицированных производных хитозана и хитозановых частиц, содержащих различного рода лиганды. Отдельным подразделом приводятся методы получения частиц из альгината, а так же получение частиц при комбинировании двух полимеров – альгината и хитозана, создание электролитных комплексов.

В разделе «Материалы и методы» перечислены использованные диссертантом подходы и методики. В ходе выполнения работы был использован широкий спектр физико-химических, иммунологических, методов наряду с методами биотехнологии и молекулярной биологии, что свидетельствует о высоком методическом уровне представленной работы и характеризует Каширину Е.И. как квалифицированного специалиста, владеющим широким арсеналом методов.

#### **Результаты диссертационной работы**

Из наиболее значимых результатов можно выделить следующие:

1. разработан метод получения наночастиц на основе производных хитозана методами самосборки и электроспрея;
2. методом самосборки в наночастицы лаурисулцинилхитозана-альгината включены белки из аллергенов КДП *D. farinae* и гриба *A. fumigatus*;
3. показано, что капсулированные аллергены не связывают IgE из сывороток больных.

Этим важным результатам исследовательской работы диссертанта способствовали правильно выбранный теоретический и эмпирический материал, верные методологические подходы, комплексный и системный анализ исследуемой проблемы, корректные, репрезентативные данные исследований, фактического и статистического материала, а также использование широкого круга российских и западных источников и научных работ.

Необходимо отметить, что в диссертационном исследовании также сформулированы выводы, среди которых наиболее значимым представляется положение о том, что:

1. капсулирование аллергена усиливает фагоцитоз макрофагами и доставку антигена в лимфоузлы;
2. иммунизация мышей капсулированными аллергенами эффективно индуцирует IgG1 и IgG2a ответ;
3. формирование высоких титров IgG1 и IgG2a не влияет на продукцию IgE, но снижает клинические проявления аллергии, что согласуется с клиническими данными.

Выводы, сформулированные в диссертационной работе, логически следуют из этапов проделанной экспериментальной работы и вполне обоснованы.

Структура и логика изложения материала в диссертационном исследовании выглядят достаточно обоснованными в контексте раскрытия поставленной цели и задач исследования. Цели и задачи исследования, сформулированные автором, были вполне достигнуты. Сильную сторону диссертации составляет разработанный автором комплекс практических исследований и рекомендаций относительно изучаемой проблемы в третьей главе диссертационного исследования.

Тем не менее, по диссертации имеется ряд замечаний:

1. Работа содержит орфографические ошибки и стилистические неточности.
2. Большинство рисунков выполнено на высоком уровне, однако встречаются исключения, в частности на рисунках 11, 15, 19 подписи на рисунке и масштаб не читаются
3. Ссылки в тексте на рисунки и сами рисунки 3 и 4 не совпадают по смыслу, приведен рисунок 9, но не хватает его описания или расшифровки в тексте.

4. В диссертации недостаточно подробно приведены методы и параметры, используемые в расчетных методах, на некоторых рисунках не приведены разбросы величин.
5. В диссертации предлагается использование хитозана в качестве материала для медицинского применения, но на этот материал нет фармакопейной статьи т.е. применение его в медицине не разрешено.

Отмеченные недостатки не снижают общей оценки рецензируемой работы. По теме диссертации опубликовано 19 работ, 7 статей в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Е.И. Кашириной на тему «Разработка системы гипоаллергенной упаковки белков в полимерный матрикс», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) является законченной квалификационной научно-исследовательской работой, в которой решена актуальная научная задача разработки новых полимерных препаратов, безопасных и эффективных для аллергенспецифической терапии, имеющая значение для биотехнологии и медицины.

Диссертационная работа Е.И. Кашириной соответствует паспорту специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в части формулы специальности и области исследований.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Кашириной Елены Игоревны соответствует требованиям пп. 9-14, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. №

748; от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Официальный оппонент  
Заведующий кафедрой  
биотехнологии и промышленной  
фармации  
института тонких химических технологий  
Федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего  
образования «Московский  
технологический «университет»  
Министерства образования и науки  
Российской Федерации  
доктор технических наук, профессор

Кедик Станислав Анатольевич

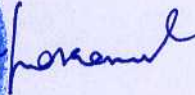


Дата \_\_\_\_\_

Адрес: пр-т Вернадского, д. 86 119571, Москва, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский технологический университет»  
Тел.: +7 (495)246-05-55  
E-mail.: [doctorkedik@yandex.ru](mailto:doctorkedik@yandex.ru)

Подпись Кедика С.А. заверяю  
первый проректор ФГБОУ ВО  
«Московский технологический университет»

д.х.н., профессор



Прокопов Н.И.