

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Владимирского Михаила Александровича на диссертационную работу Фурсова Михаила Васильевича «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия.

### **Актуальность темы исследования**

Актуальность темы, безусловно, не подлежит сомнению, поскольку ее фундаментальный характер и спектр важнейших задач, которые решаются в процессе данного исследования, освещает основные принципиально важные проблемы борьбы с туберкулезом как пока еще распространенного социально значимого инфекционного заболевания. При этом фактическое содержание научно-исследовательской работы соискателя существенно шире самого названия темы диссертационной работы.

Автор посвятил свое исследование двум важнейшим аспектам проблемы борьбы с туберкулезом: молекулярно-генетическое исследование гипервирулентных штаммов микобактерий туберкулеза, полученных от больных с тяжелым течением туберкулезной инфекции, с использованием молекулярно-генетических методов исследования, а также экспериментальное исследование новых отечественных вакцин с изучением их не только собственно профилактических, но и лечебных свойств.

**Степень новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Молекулярно-генетический анализ гипервирулентных клинических штаммов, проведенный автором, позволил определить спектр ДНК мутаций, обуславливающих и конкретизирующих лекарственную устойчивость этих штаммов, которые были отнесены к конкретным кладам пекинского (Beiging) семейства и охарактеризованы как штаммы с множественной, пред-широкой и широкой лекарственной устойчивостью. Были исследованы молекулярно-генетическая, фенотипическая и биологическая характеристики гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*. При молекулярно-генетическом исследовании этих штаммов были использованы все самые

современные методы исследований: ПЦР в реальном времени, сполиготипирование, анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и полногеномное секвенирование.

Молекулярно-генетические исследования экспрессии генов малых некодирующих РНК позволили автору оценить различный ответ микобактерий туберкулеза на искусственно моделируемые стрессорные изменения (осмотические, гипоксия, «голодная» среда, закисление), возможно соответствующие биологическим условиям микобактерий в фагосоме макрофагов. Экспериментальные исследования *in vivo* в тканях легких мышей, инфицированных гипервирулентными штаммами микобактерий туберкулеза, продемонстрировали изменения транскрипции 26 генов спектра цитокинов, в том числе интерферона, фактора некроза опухолей и спектра интерлейкинов в ответ на инфекцию, что представляет значительный интерес для будущих исследований.

В экспериментальных исследованиях на мышах относительно устойчивой к туберкулезу линии C57BL/6 автором диссертации детально изучена динамика развития инфекции при использовании избранных для исследований гипервирулентных штаммов с различным характером лекарственной устойчивости: штамм Ростов выделен на юге России в 2013 г., обладающий лекарственной устойчивости на уровне пред-ШЛУ, штаммы 267/47 (ШЛУ) и 120/26 (МЛУ) выделены в Москве в 2018 г., в сравнении со стандартным штаммом H37RV.

Изучали скорость роста микобактерий на плотных питательных средах и на животных, сравнительную летальность, обсемененность органов и гистологические характеристики патологии в органах: легких, селезенке и печени. Было показано, что штамм Ростов характеризуется наибольшей летальностью, штамм 267/47 (ШЛУ) - более высокой летальностью и обсемененностью органов, чем штамм 120/26 (МЛУ), и оба этих штамма более патогенны, чем штамм сравнения H37RV.

В экспериментальных исследованиях было проведено сравнительное изучение профилактической и вспомогательной лечебной активности полиантигенной вакцины «ЛТБвак», наряду с вакциной «ГамТБвак», по сравнению с профилактической активностью традиционной вакцины БЦЖ. Было показано, что указанные две новые вакцины обладают более высокой профилактической активностью, по сравнению с

вакциной БЦЖ. В то же время, терапевтическая активность была более высокой у «Полиантигенной вакцины ЛТБвак».

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Теоретическое значение проведенных исследований следует отметить в разделе исследований по транскрипции 26 генов спектра цитокинов в тканях легких инфицированных мышей, а также в разделе по исследованию «раннего» ответа экспрессии 10 генов малых некодирующих РНК в микобактериях туберкулеза на стрессорные факты при их инкубации в условиях гипоксии, «голодной» питательной среды, оксидативного стресса, которые могут быть приравнены к условиям внутри фагосом макрофагов.

Практическая значимость диссертационного исследования несомненна как по направлению молекулярно-генетической характеристики штаммов микобактерий туберкулеза, полученным от больных с тяжелыми формами туберкулеза, так и, безусловно, по экспериментальным исследованиям на лабораторных животных, позволившим выявить более высокую профилактическую активность вакцин «ГамТвак» и «ЛТБвак», по сравнению с традиционной вакциной БЦЖ, а также определенную лечебную активность препарата «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза «ЛТБвак».

### **Достоверность и апробация результатов исследования.**

Результаты исследований статистически обработаны. Анализ всех экспериментальных данных проводили с использованием программы GraphPad Prism версии 8.0.1 для Windows (GraphPad Software, Ла-Хойя, США). Данные о выживаемости животных анализировали с использованием непараметрического статистического критерия Гехана-Бреслоу-Уилкоксона.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на 8 международных и российских конференциях и симпозиумах.

Основные результаты исследований по теме диссертации были опубликованы в 16 печатных публикациях, из которых 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК, 2 статьи в прочих изданиях, 8 тезисов докладов в сборниках трудов конференций и 1 База данных

## **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации.**

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена литературным языком на 172 страницах машинописного текста и состоит из введения, очень качественного обзора литературы, 4-х глав собственных лабораторных исследований, заключения, выводов, а также рекомендаций по использованию результатов диссертационного исследования и списка использованной литературы из 373 источников.

Во введении автор описывает туберкулез как социальную проблему, обосновывает актуальность исследования в связи с проблемой лекарственной устойчивости возбудителя, его биологию, вакцинацию и существующие вакцины против туберкулеза, цели и задачи исследования, включая краткое содержание основных методов исследования темы, указывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования и приводит основные положения, выносимые на защиту, описывает методологию и методы исследования изученных штаммов микобактерий туберкулеза.

Обзор литературы состоит из 4-х подразделов и посвящен описанию туберкулеза как социального заболевания, биологии возбудителя туберкулеза, моделированию туберкулезной инфекции и проблемам противотуберкулезной вакцинации. Раздел «материалы и методы» описывает использованные микробиологические, биохимические, молекулярно-генетические, биоинформатические и гистологические методы, а также статистические методы. Собственные материалы представлены в 19 таблицах и 45 рисунках.

Глава «Заключение», содержит обобщение полученных результатов. Выводы состоят из шести основных кратких результатов исследования.

Аннотация отражает основные положения диссертационной работы и соответствует ГОСТ 7.0.11-2011.

Таким образом, диссертационная работа представляет собой законченное научное исследование и соответствует специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия.

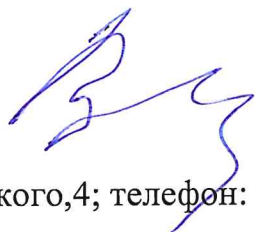


## Заключение

Таким образом, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований диссертация Фурсова М.В. на тему «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия, выполненная под руководством доктора биологических наук Потапова В.Д. и академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Дятлова И.А. полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Фурсов Михаил Васильевич достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

Заведующий научной лабораторией иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор



Владимирский Михаил Александрович

127473, г. Москва, ул. Достоевского, 4; телефон: 8(495)631-15-15  
e-mail: [mvladimirskij@mail.ru](mailto:mvladimirskij@mail.ru)

Подпись д.м.н., проф. М.А. Владимирского заверяю:

Первый заместитель директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, доктор медицинских наук



Самойлова Анастасия Геннадьевна