

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Павлович Натальи Владимировны на диссертационную работу Карцевой Алены Сергеевны на тему: «Механизмы иммунитета при экспериментальной туляремии на мышинной модели», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. биотехнология и 1.5.11. микробиология

Актуальность диссертационного исследования

Диссертационная работа А.С. Карцевой посвящена актуальной научной проблеме – изучению механизмов иммунных реакций у мышей, вакцинированных живой туляремийной вакциной, и поиску критериев для отбора наиболее оптимальных вакцинных кандидатов.

В настоящее время в РФ для специфической профилактики туляремии применяется живая вакцина, обеспечивающая длительный и напряженный иммунитет против инфекции. Именно благодаря этому достигнуты успехи в борьбе с заболеванием, а туляремия отнесена к категории вакцино-контролируемых инфекций. Тем не менее, в течение длительного времени не прекращаются попытки разработки живых или молекулярных вакцин нового поколения. Во многом это обусловлено тем, что вакцина обеспечивает эффективную защиту только против штаммов голарктического подвида и значительно хуже – против наиболее патогенных штаммов американского подвида. Следует учитывать также высокую реактогенность вакцины, которая может вызывать нежелательные побочные эффекты для макроорганизма (лимфадениты, лихорадку и др.). В то же время, сегодня механизмы, определяющие подобные негативные реакции, изучены крайне недостаточно. Поэтому выбранное диссертантом направление исследования безусловно актуально и посвящено поиску экспериментальных критериев отбора наиболее перспективных кандидатов в вакцинные штаммы.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 32 работы отечественных и 250 работ зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 30 рисунками и 5 таблицами, включает 1 приложение.

Цель исследования и обоснованность научных положений и выводов

Цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту, четко сформулированы и отражают суть выбранного направления. Для реализации поставленных задач автор использует широкий арсенал современных методов – микробиологических, биохимических, биотехнологических, иммунологических, молекулярно-генетических и биологических. Достоверность результатов подтверждена методами статистической обработки и убедительным наглядным материалом (рисунки, таблицы).

Положения, выносимые на защиту, достаточно четко сформулированы.

Научная новизна

Безусловным достоинством работы является использование высоко технологичных методов, что позволило получить новые данные по ряду вопросов. Так, на модели генетически модифицированных вариантов вакцинного штамма удалось доказать, что они индуцируют у мышей более низкий синтез TNF- α , что взаимосвязано с их более низкой реактогенностью по сравнению с исходным штаммом.

Известно, что патогенность туляремийного микроба для человека и млекопитающих зависит от подвидовой принадлежности *Francisella tularensis*. До настоящего времени молекулярные механизмы этих различий полностью не идентифицированы. Поэтому автором с учетом этих особенностей в качестве типовых штаммов для оценки протективных свойств исследуемых вариантов включены штаммы двух подвидов – *F. tularensis subsp. holarctica* и *subsp. tularensis*. Интересные и информативные результаты получены при изучении поствакцинального иммунитета не только в ранние сроки, но и в течение 30, 60, 90 и 180 сут. после иммунизации. Показано, что длительность поствакцинального иммунитета у мышей зависит от подвидовой принадлежности инфицирующего вирулентного штамма - заражение голарктическим штаммом обеспечивает 100 % защиту в течение 180 суток. В отличие от гомологичного штамма, длительность протекции против неарктического штамма была существенно короче. Таким образом, автор еще раз подтвердил, что применяемая вакцина не обеспечивает длительного напряженного иммунитета против возбудителя туляремии *subsp. tularensis*. Установлена прямая корреляция между продолжительностью специфической защиты мышей против штамма *F. tularensis* Schu *subsp. tularensis* и функциональной активностью ТЕМ и ТСМ.

Теоретическая и практическая значимость.

При сравнительном анализе вакцинного и генетически измененных вариантов со сниженной остаточной вирулентностью автору удалось обнаружить различия в цитокиновом профиле сыворотки крови мышей линии BALB/c, что может служить показателем снижения их реактогенности.

Заслугой соискателя является разработка иммунологических критериев оценки эффективности существующей и разрабатываемых противотуляремийных вакцин на основе аттенуированных штаммов *F. tularensis*. Практическая значимость полученных результатов подтверждена зарегистрированной на Федеральном уровне базой данных «Показатели противотуляремийного иммунитета на модели мышей линии BALB/c».

Необходимо отметить, что автором изучен широкий диапазон маркеров и факторов гуморального и клеточного звеньев противотуляремийного иммунитета, что позволило выявить и проанализировать корреляцию между различными факторами иммунных ответов организма хозяина на введение живой туляремийной вакцины и ее модифицированных вариантов. Полученные результаты демонстрируют тот факт, что соискатель профессионально владеет не только экспериментальными методами исследования, но и умением грамотно их интерпретировать.

Выводы, сделанные диссертантом на основании полученных результатов, корректно сформулированы, научно обоснованы и доказаны.

Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на международных и Российских конференциях.

По материалам диссертационной работы опубликовано 17 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах из списка изданий, рекомендованных ВАК РФ, 1 База данных, 1 статья в прочих изданиях и 12 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

В автореферате достаточно полно представлен материал диссертации с отражением всех аспектов проведенного исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе в целом

Диссертация А.С. Карцевой заслуживает положительной оценки, так как содержит богатый аналитический и экспериментальный материал, характеризующийся актуальностью, научной новизной, теоретической и практической значимостью.

Тем не менее, имеются некоторые замечания и пожелания, которые не умаляют заслуг автора и не носят принципиальный характер.

– хотелось бы уточнить, почему диссертантом для модельных экспериментов выбрана линия мышей BALB/c, как наиболее адекватная при отборе критериев для выбора оптимальных кандидатов в вакцины. Насколько данные можно интерпретировать на человека;

- в работе отсутствует характеристика биологических свойств мутантных штаммов возбудителя туляремии, которая приведена в диссертации А.Н. Мокриевича, что позволило бы лучше понимать полученные А.С. Карцевой результаты.

- известно, что для изучения формирования противотуляреминого иммунитета наиболее адекватной моделью являются морские свинки. На мышах в соответствии с МУ 3.3.1.2161-07 определяют только степень остаточной вирулентности испытуемого вакцинного штамма. Все другие показатели – безвредность, реактогенность, иммуногенность, влияние на иммунную систему – исследуют на морских свинках. Поэтому, хотелось бы получить от автора сопоставление полученных им результатов с литературными данными о корреляции с морскими свинками и человеком.

- обращает на себя внимание существенный перекоп цитируемой литературы в сторону зарубежных авторов (250) против 32 отечественных, хотя имеется много приоритетных работ наших соотечественников.

Основываясь на изложенных в диссертации материалах, считаю, что диссертация Карцевой Алены Сергеевны на тему: «Механизмы иммунитета при экспериментальной туляремии на мышинной модели», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. биотехнология и 1.5.11. микробиология является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач микробиологии, имеющих важное научное и практическое значение.

Диссертационная работа Карцевой Алены Сергеевны соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748, от 29 мая 2017 года № 650, от 28 августа 2017 № 1024, от 01 октября 2018 года № 1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Карцева Алена Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. биотехнология и 1.5.11. микробиология.

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации (ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора),

доктор медицинских наук

Наталья Владимировна Павлович

Адрес: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40

Телефон: 8 (863) 240-27-03

E-mail: plague@aanet.ru

Подпись Н.В. Павлович заверяю

Начальник отдела кадров
ФКУЗ Ростовский-на-Дону
противочумный институт
Роспотребнадзора



Е.Е. Стоян