

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, Лунина Владимира Глебовича на диссертацию в виде научного доклада Филипенко Максима Леонидовича **«Молекулярно-генетическое типирование *Mycobacterium tuberculosis*, выявление мутаций генома, вызывающих резистентность к противотуберкулезным препаратам»**, представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Актуальность избранной темы

Очень давно, несколько тысячелетий назад, возникнув в Африке микобактерия туберкулеза сопровождает человека, постоянно эволюционируя, принося огромное количество смертей. Казалось бы новая эра в лечении этого смертельно опасного заболевания началась в середине прошлого века, когда Зельман Ваксман открыл стрептомицин, первый до настоящего времени активный в отношении микобактерий антибиотик. Но, спустя годы применения этого препарата и других (например, рифампицина), ученые стали фиксировать появление микобактерий, обладающих лекарственной резистентностью. Лекарственная резистентность бактериальных инфекционных агентов является сегодня сложнейшей медицинской проблемой, требующей самого серьезного изучения ее молекулярных основ.

В отличие от многих классических бактериальных патогенов для микобактерий не характерен горизонтальный перенос генетической информации, они имеют клональный тип эволюции. Это сделало их прекрасным объектом для классической и молекулярной эпидемиологии. И действительно, часто легче пресечь распространение туберкулеза, чем его лечить. Таким образом, сегодня для борьбы с распространением туберкулезной инфекции абсолютно необходимы исследования молекулярной генетики лекарственной резистентности микобактерий и, тем более, в контексте постоянной эволюции этого патогена, формирования его генетического разнообразия и патогенетического фенотипа. Более того, все вышеперечисленное абсолютно необходимо для развития эффективных средств диагностики туберкулеза, как в условиях современных медицинских учреждений, так и за их стенами.

Решению этих важных научных проблем посвящена диссертационная работа Филипенко Максима Леонидовича, что и обуславливает актуальность выбранной диссертантом темы.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов

Представленная к защите докторской диссертация работа содержит первые данные о клональной структуре изолятов *M.tuberculosis* в Западно-Сибирском регионе России, а также типах мутаций, вызывающих лекарственную резистентность. Автором впервые подробно охарактеризована коллекция изолятов *M.tuberculosis*, циркулирующих на Новосибирской области, получены данные о частотах встречаемости успешного российского клона B0/W148 в Западно-Сибирском регионе, что в дальнейшем позволило ряду других исследователей предложить теорию распространения этого клона в России и прилегающих странах. В работе впервые описан молекулярный профиль изолятов с XDR, циркулирующих на территории Западной Сибири. Полученные нами данные о клональной структуре изолятов *M.tuberculosis* в Западно-Сибирском регионе России уже были активно использованы для реконструкции эволюции и распространения различных генетических групп *M.tuberculosis* на территории России и Азии. Отдельно стоит отметить предложенные автором оригинальные методические подходы для выявления мутаций, вызывающих лекарственную резистентность у микобактерий туберкулеза. Филипенко М.Л. представлены данные об клонировании и характеристике новых гибридных цепь-вытесняющих ДНК-полимераз, имеющих прекрасные перспективы для клинического диагностического использования, предложены оригинальные модели изотермальных тест-систем для выявления *M.tuberculosis* с улучшенными авторами аналитическими характеристиками, на что получены авторские патенты. Сделанные в работе выводы имеют как теоретическую, так и практическую значимость.

Разработанная платформа для клинической диагностики с помощью изотермальной амплификации нуклеиновых кислот имеет прямое практическое значение и близка к стадии коммерциализации.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием комплекса современных методов исследований, тщательным анализом полученных данных с использованием современных статистических и эволюционных методов. В работе проведен анализ достаточного количества клинических образцов, базируясь на классических статистических оценках. Выносимые на защиту научные положения основаны на обширном фактическом материале, полученным как самим автором, так и в

соавторстве с другими участниками научного коллектива и коллегами из других научных организаций.

Филипенко М.Л. провел большую, многоплановую и последовательную работу для достижения поставленных целей. Таким образом, достаточный объем проведенных исследований, вкупе с их адекватным осмыслением, позволили решить все задачи, стоявшие перед автором, и обосновать все положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа Филипенко М.Л. в виде научного доклада изложена на 31-й странице машинописного текста. Результаты опубликованы в 22-х статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus и 7 журналах базы данных РИНЦ; получено 5 патентов на изобретение РФ.

Во «Введении» автор формулирует цели и задачи своей работы, обосновывает актуальность проблемы исследования, оценивает научную новизну, отмечает теоретическую и практическую значимость результатов, формулирует положения, выносимые на защиту. Диссертацию завершают 7 выводов, которые логически вытекают из проделанной работы и отвечают на поставленные цель и задачи.

В целом диссертационная работа производит хорошее впечатление. Исследование выполнено на высоком методическом уровне, сформулированные в работе выводы базируются на обширном экспериментальном материале.

Существенных замечаний по существу работы нет. Но хотелось бы задать автору работы следующие вопросы:

- Проводился ли какой-то дополнительный анализ геномов XDR-изолятов микобактерий туберкулеза с целью объяснить приобретение ими широкого спектра лекарственной резистентности?

- Известно, что изотермальная амплификация при мониторинге нарастающей флуоресценции в помощь интеркалирующих красителей может генерировать сигнал в отсутствие специфической матрицы ДНК. Сталкивался ли автор работы с таким явлением и если да, то как с ним боролись?

- Некоторые цепь-вытесняющие ДНК-полимеразы обладают детектируемой РНК-зависимой ДНК-полимеразной активностью. Изучался ли это вопрос у гибридных ДНК-полимераз, полученных в исследовании?

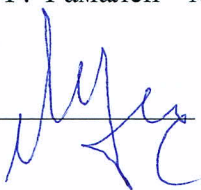
Заключение

На основе всего вышеизложенного можно сделать вывод, что диссертационная работа Филипенко Максима Леонидовича является цельным завершенным научным исследованием, полностью соответствует требованиям и критериям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук. Диссертационная работа в виде научного доклада оформлена в соответствии с Приложениями № 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а сам Филипенко Максим Леонидович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации Филипенко Максима Леонидовича, исходя из нормативных документов Правительства РФ, Минобрнауки РФ и ВАК при Минобрнауки РФ, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте ИХБФМ СО РАН, на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Доктор биологических наук, руководитель лаборатории биологически активных наноструктур "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г Москва

Лунин Владимир Глебович _____ 1 ноября 2022



Почтовый адрес: 123098, Российская Федерация,
г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18
Телефон: +7 (499)1933001, моб +7(916) 1442264
Электронная почта: lunin1955@gmail.com
Адрес в сети интернет: www.gamaleya.org

Подпись д.б.н., В.Г.Лунина заверяю, ученый секретарь НИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи к.б.н. Л.К. Кожевникова

