

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Филипенко Максима Леонидовича «Молекулярно-генетическое типирование *Mycobacterium tuberculosis*, выявление мутаций генома, вызывающих резистентность к противотуберкулезным препаратам», представленную к защите в диссертационный совет ИХБФМ.03.01 на базе ФГБУН ИХБФМ СО РАН на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Актуальность темы диссертационной работы

Туберкулез – это грозное инфекционное заболевание, представляющее серьезную проблему для здравоохранения во многих регионах мира. В середине XX века, после начала активного применения антибиотиков, казалось, что скоро эта проблема будет решена, и, действительно, количество заболевших значительно сократилось, а процент выздоровлений существенно вырос. Однако, повсеместный рост доли антибиотикорезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* усложнил подходы к излечению пациентов. Для снижения уровня заболеваемости и смертности от туберкулеза необходимы не только своевременная диагностика и адекватная терапия, но и эпидемиологическое расследование с целью выявления источника заражения для предотвращения дальнейшего распространения этой инфекции, что приобретает особую важность в случае антибиотикорезистентных штаммов *M. tuberculosis*.

Ряд регионов Российской Федерации, включая Новосибирскую область, являются неблагополучными по туберкулезу, причем именно в таких регионах туберкулез, вызванный антибиотикорезистентными штаммами микобактерий, встречается особенно часто. Все это требует повышенного внимания к этой проблеме не только клиницистов, но и генетиков и эпидемиологов. Однако, к началу проведения исследований, выполненных под руководством Максима Леонидовича, подобные работы в Российской Федерации только начинали разворачиваться. В связи с вышесказанным, актуальность исследований Филипенко Максима Леонидовича, результаты которых представлены в диссертационной работе в виде научного доклада, не вызывает сомнений.

Научная новизна полученных результатов

В представленной работе впервые показана клональная структура изолятов *M. tuberculosis* в Западно-Сибирском регионе Российской Федерации и определен спектр и частоты мутаций, вызывающих резистентность к рифапмицину. Впервые подробно охарактеризована коллекция изолятов *M. tuberculosis*, в том числе XDR-типа (extra-drug

resistant), циркулирующих на Новосибирской области. Впервые получены данные о встречаемости часто встречающегося российского клона B0/W148 в Западно-Сибирском регионе, что послужило основой для создания теории распространения этого клона в России и прилегающих странах. Впервые изучен молекулярный профиль изолятов с XDR, циркулирующих на территории Западной Сибири и предложен ряд оригинальных методических подходов для выявления основных частотных мутаций, вызывающих лекарственную резистентность у *M. tuberculosis*. Выявлены ассоциации таких мутаций в геноме *M. tuberculosis* с принадлежностью данного штамма к определенному семейству или подсемейству.

Практическая значимость полученных результатов

Реализация комплексного подхода к молекулярно-генетической характеристике изолятов *M. tuberculosis* способствовала разработке эффективного метода высокоразрешающего типирования изолятов и оптимизации различных методических приемов. Это позволило разработать и успешно апробировать платформу для более эффективной клинической диагностики туберкулеза. Разработка такой платформы потребовала дополнительных научно-практических исследований, в ходе которых были выбраны и/или охарактеризованы специальные ферментные комплексы, красители, праймеры и т.д. Созданная платформа для клинической диагностики туберкулеза доказала свою эффективность и успешно используется в клинической практике.

Кроме того, в исследованиях, описанных в работе М.Л. Филипенко, было доказано, что VNTR-типирование может быть использовано для решения реальных эпидемиологических задач по уточнению причин заболевания, а также для улучшения или смены протоколов терапии в клинической практике.

Достоверность полученных результатов, степень обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы определяется объемом экспериментальных данных, качеством их анализа и объемом публикаций в рецензируемых изданиях. Вся работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных методов молекулярной эпидемиологии и генетики. В связи с этим качество результатов, представленных даже в ранних публикациях, не вызывает сомнений.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация Филипенко М.Л. представлена в виде научного доклада и сопровождающего его автореферата. В связи с этим, обзор научной литературы и описание экспериментальных методов, использованных в работе, представлены в научных

публикациях, список которых приведен в автореферате. Список содержит 22 статьи в журналах, входящих в базы WoS и SCOPUS, семь статей, входящих в базу РИНЦ, а также пять патентов Российской Федерации, два из которых опубликованы в 2022 году.

Введение содержит все необходимые разделы: «Актуальность проблемы», «Цель и задачи исследования», «Научная новизна», «Теоретическая и практическая значимость исследования», «Основные положения, выносимые на защиту», «Публикации и апробация работы», «Личный вклад автора». Все разделы написаны корректно и соответствуют тому, что изложено в разделе «Содержание работы» и в публикациях.

В первой части главы «Содержание работы» последовательно представлено развитие исследований от генотипирования изолятов *M. tuberculosis*, циркулировавших в различных регионах, до клинического применения разработанных подходов и изучения генетических основ резистентности *M. tuberculosis* к рифампицину, изониазиду и пипразинамиду.

Вторая часть этой главы содержит описание этапов разработки эффективных методов диагностики туберкулеза на основе выявления ДНК *M. tuberculosis*. В результате был выбран оптимальный метод выделения ДНК микобактерий; разработана универсальная диагностическая платформа на основе изотермальной амплификации ДНК инфекционного агента, которая затем была переведена в колориметрический формат с визуальной детекцией результатов; разработан метод выявления мутаций, вызывающих лекарственную резистентность *M. tuberculosis*. Следует подчеркнуть, что разработчики под руководством М.Л. Филипенко уделяли особое внимание тому, чтобы разработанные ими методы диагностики не только обладали высокой чувствительностью и специфичностью, что само по себе не всегда легко достигнуть, но и были быстрыми, относительно простыми в исполнении и не требовали дорогостоящего оборудования. Стоит отметить, что разработанные под руководством Максима Леонидовича клинико-диагностические системы успешно коммерциализованы и в настоящее время нашли применение в клинике.

Все разделы в главе «Содержание работы» содержат анализ полученных результатов в контексте опубликованных данных; в конце разделов имеются заключения.

В главе «Заключение», довольно кратко, суммированы полученные автором результаты, а также вытекающая из них значимость результатов. Выводы диссертации обоснованы и соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

В целом, текст написан кратко, ясно и логично и проиллюстрирован одиннадцатью рисунками.

Замечания к диссертационной работе

Основное замечание к представленному тексту – чрезмерная краткость раздела «Основные результаты». Автор, безусловно, прекрасно зная свои результаты, не считал нужным «расписывать» их хоть немного подробнее. Хотелось бы услышать уточнение от автора по поводу фразы «Для разработанной системы праймеров для проведения LAMP чувствительность была несколько ниже – 96,9% против 96,4% для праймеров из литературы». Ниже против чего? Может, против праймеров для кПЦР?

Следует повторить, что приведенные замечания являются дискуссионными или техническими и не снижают большой научно-практической ценности полученных автором результатов.

Научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, обоснованы объемом проведенных исследований, корректными методическими подходами и использованием современных методов исследования. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы логично вытекают из полученных результатов. Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов не вызывают сомнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Филипенко Максима Леонидовича «Молекулярно-генетическое типирование *Mycobacterium tuberculosis*, выявление мутаций генома, вызывающих резистентность к противотуберкулезным препаратам», представленная на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, является завершённой научно-исследовательской работой, в которой изложены результаты многолетней комплексной работы, в ходе которой были получены важные фундаментальные результаты и решена важнейшая прикладная задача. Диссертационная работа включает первое систематическое исследование молекулярно-эпидемиологической структуры туберкулеза в Западной Сибири и выявление генетических механизмов резистентности *M. tuberculosis*. Кроме того, в ходе работы создана новая высокоэффективная диагностическая система, нашедшая свое применение в клинической практике. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Актуальность поставленных и решенных в ходе диссертационной работы фундаментальных и научно-практических задач, большой объем и качество проведенных научных исследований, новизна и высокая научная значимость полученных результатов, а также обоснованность приводимых выводов позволяют заключить, что диссертационная работа М.Л. Филипенко полностью соответствует требованиям, установленным

Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, которые предъявляются 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. Автор диссертации, Филипенко Максим Леонидович, несомненно, заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология».

Зав. лабораторией молекулярной микробиологии
ИХБФМ СО РАН
д.б.н., доцент



Тикунова Н.В.
16.11.2022

Подпись Н.В. Тикуновой заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН
к.х.н.



Новопашина Д.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН),

Новосибирск, 630090, пр-т академика Лаврентьева, д.8.

Тел. +7(383)363-51-50; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru; www.niboch.nsc.ru