

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертационную работу Титовой Ксении Александровны
«ЛАБОРАТОРНЫЕ МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ МЫШЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ
ЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ
ОТ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ»,
представленную к защите в диссертационный совет 64.1.001.01
на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.10 – вирусология

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертация К.А. Титовой посвящена разработке модельных биосистем на основе мышей для оценки эффективности кандидатных лечебно-профилактических препаратов от натуральной оспы.

Актуальность проблемы, затронутой в данной работе, не вызывает каких-либо сомнений. Интерес к возбудителю натуральной оспы продолжает сохраняться до сих пор. Это обусловлено несколькими обстоятельствами: высокой патогенностью вируса в отношении человека (летальность достигает 25-40 %); резким снижением числа людей, устойчивых к этому патогену (вакцинация от оспы была прекращена около 40 лет тому назад); увеличением масштаба и частоты эпидемических вспышек родственных ортопоксвирусов – оспы обезьян и оспы коров; наличием лишь одного разрешенного к применению (и то только в США) лечебно-профилактического химиопрепарата (Tecovirimat на основе ST-246). Сохраняется угроза использования вируса натуральной оспы в целях биотерроризма. Опубликованные работы описывают потенциальную возможность создания искусственно модифицированного вируса натуральной оспы, способного преодолевать вакцинную защиту. Спектр изученных ортопоксвирусов постоянно расширяется. В дополнение к классическим, патогенным для человека ортопоксвирусам, недавно были открыты ранее неизвестные Abatino, Akhmeta and Alaska поксвирусы.

Одним из препятствий быстрому прогрессу в создании медицинских средств защиты от натуральной оспы является отсутствие лабораторных моделей для массового скрининга препаратов по противооспенной активности в экспериментах с использованием вируса натуральной оспы и животных, что, естественно, делает актуальной проблему разработки таких моделей.

Для оценки эффективности действия разрабатываемых противовирусных препаратов по требованиям национальных органов контроля важно иметь не менее 2 видов животных, моделирующих соответствующее инфекционное заболевание у человека. К настоящему времени подобран лишь один вид такого животного – макака циномогус. Но использование данного вида животного в вирусологических экспериментах является очень дорогостоящим и трудоемким. Кроме того, его применение ограничивается только оценкой терапевтической эффективности разрабатываемых химиопрепаратов.

Согласно принятым FDA США «Animal Model Rule» для утверждения регулируемыми органами потенциальные терапевтические средства для защиты от натуральной оспы должны быть протестированы как минимум на двух суррогатных моделях ортопоксвирусов животных, таких как вирус оспы обезьян у нечеловекообразных приматов, вирус оспы кроликов у кроликов и / или вирус экстремелии у мышей. Однако это не предполагает исследование самого вируса натуральной оспы.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В представленной работе была изучена возможность использования мышей аутбредной популяции ICR и иммунодефицитных линий SCID и Nude в качестве модельных животных для натуральной оспы.

Автор на современном методическом уровне изучил чувствительность иммунокомпетентных мышей аутбредной популяции ICR, а также мышей иммунодефицитных линий SCID и Nude к вирусу натуральной оспы (штамм India-3a, вирулентный для человека) в экспериментах по их интраназальному заражению; изучена динамика распространения вируса натуральной оспы в организме зараженных мышей аутбредной популяции ICR и иммунодефицитных линий SCID и Nude; исследованы патоморфологические изменения в организме выбранных популяций мышей, инфицированных вирусом натуральной оспы; оценена возможность использования выбранных популяций мышей и штамма India-3a вируса натуральной оспы в составе лабораторных моделей для изучения эффективности препаратов от натуральной оспы;

Автор провел испытание противооспенных препаратов на выбранных лабораторных моделях и определил пределы их практического применения.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Фундаментальная значимость полученных К.А. Титовой результатов заключается в разработке лабораторных моделей для оценки противовирусной характеристики противооспенных препаратов, связанных с имитацией не внешней симптоматики натуральной оспы у людей, а процесса инфекции в органах-мишенях (первичных и вторичных) и в клетках-мишенях, что дает возможность рассчитать 50 %-ю инфицирующую дозу.

Практическая значимость результатов, представленных в данной диссертационной работе, не вызывает сомнений. В результате проделанной работы с применением выбранных лабораторных моделей, включая соответствующие методические рекомендации по их использованию, были успешно проведены доклинические и клинические исследования российского противооспенного химически синтезированного соединения НИОХ-14, что открывает перспективу его дальнейшего продвижения в направлении регистрации в Министерстве здравоохранения РФ.

Общая характеристика диссертационной работы

Текст диссертации К.А. Титовой изложен на 142 страницах машинописного текста, включая список использованной литературы и два приложения. Диссертация написана в традиционном стиле и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы: скрининг лабораторных моделей для создания препаратов от натуральной оспы у людей», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы, который содержит 163 публикации отечественных (38 источников) и зарубежных авторов (125 источников). Диссертация иллюстрирована 14 рисунками и 20 таблицами.

Введение содержит все необходимые разделы: «Актуальность темы исследования», «Степень разработанности», «Цели и задачи», «Научная новизна», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Методология и методы исследования», «Положения, выносимые на защиту», «Степень достоверности и

апробация результатов», далее автор описывает личный вклад в диссертационную работу, структуру и объем диссертации. Все разделы написаны корректно и соответствуют тому, что изложено в основных главах диссертации.

Обзор литературы (глава 1), представленный в работе, хорошо освещает проблему разработки модельного вида животных для натуральной оспы. Глава написана грамотно и соответствует тематике данной работы, в ней приведена информация из научных источников, касающаяся видов лабораторных животных, используемых при оценке эффективности препаратов от натуральной оспы. Автор привел данные: о чувствительности к вирусу натуральной оспы различных видов лабораторных животных и человека, а также их первичных клеток-мишеней для этого патогена; о диссеминации вируса в организме животных; об изменениях в органах и тканях модельных животных, а также об оценке эффективности препаратов от натуральной оспы с использованием единственно существующего модельного вида животных – макака циномоглус. Сделано заключение, мотивирующее необходимость проведения исследований по разработке дешевых и удобных лабораторных моделей для массового скрининга противооспенных препаратов с использованием высоковирулентного для человека штамма India-3a вируса натуральной оспы.

В целом представленный в литературном обзоре материал убеждает в обоснованности избранного автором пути решения поставленных перед ним задач.

Все использованные автором в работе методы подробно описаны в главе 2 «Материалы и методы», что свидетельствует о большом объеме проделанной автором работы. Важно отметить, что данные, получаемые в процессе проведения экспериментов, подвергались статистической обработке.

Глава 3 посвящена описанию и обсуждению полученных результатов и содержит последовательное изложение предпринятых автором экспериментов. В начале автор проводит экспериментальную оценку чувствительности мышей различных линий к вирусу натуральной оспы. При этом отмечена высокая чувствительность исследуемых групп мышей к этому вирусу. Далее соискатель проводит исследования по изучению распространения вируса натуральной оспы в организме этих животных. Было установлено, что у изученных мышей наиболее выраженные патоморфологические изменения были сосредоточены в основном в респираторных органах.

Далее с применением мышей линий ICR и SCID соискателем было подтверждено наличие противовирусного действия химически синтезированного соединения НИОХ-14. Это свидетельствует о возможности применения таких лабораторных моделей для изучения защитной эффективности химиопрепаратов от натуральной оспы. Определены пределы практического применения таких моделей.

В главе «Заключение» суммированы все полученные автором результаты. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам, они закономерно вытекают из полученных результатов и полностью обоснованы.

Автореферат адекватно отражает основные результаты диссертационной работы. По теме диссертации опубликованы 5 научных статей, из них 3 – в отечественных журналах из списка ВАК и 2 – в зарубежных изданиях, получено 2 патента Российской Федерации.

В целом, диссертация написана ясно и логично, содержит все необходимые рисунки и таблицы, иллюстрирующие полученные результаты.

Замечания к диссертационной работе

Замечания к данной работе незначительны и имеют технический или дискуссионный характер.

1. В разделах «Обзор литературы» и «Результаты и их обсуждение» полученные автором результаты не сравниваются с ранее опубликованными данными по использованию мышей линии CAST / EiJ в качестве модельных животных при изучении вируса натуральной оспы (Use of live Variola virus to determine whether CAST/EiJ mice are a suitable surrogate animal model for human smallpox Virus Research Volume 275, 2 January 2020), для которых наблюдали устойчивый иммунный ответ на вирус натуральной оспы.
2. На рис. 3.13 и 3.14 приведены патогенетические схемы заболевания у 10-14-суточных мышей аутбредных популяции ICR и 18-21-суточных мышей иммунодефицитной линии SCID, интраназально инфицированных штаммом India-3a ВНО. В то же время автор изучал патогенетические характеристики и у мышей иммунодефицитной линии Nude, однако такой схемы в отношении этой линии животных он не приводит.

3. Желательно, чтобы автор более точно сформулировал теоретическую и практическую значимость выполненного исследования. Выполнение научных грантов, конечно, важно, но не является обоснованием фундаментальной значимости научной работы.

4. В качестве замечаний можно отметить наличие небольшого количества грамматических ошибок и опечаток. Имеются ошибки оформления и в списке литературы. В списке сокращений приведена избыточная информация.

Однако приведенные замечания не умаляют высокую значимость полученных результатов.

Достоверность полученных результатов, степень обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы

Использование современных методов исследований, большой объем проведенной работы по разработки лабораторных моделей для натуральной оспы, добротность полученных экспериментальных результатов с применением методов статистической обработки, существенная научная новизна и практический выход из полученных автором результатов – все это создает прекрасное впечатление о данной диссертационной работе.

Научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, обоснованы проведенными исследованиями, методическими подходами, 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 вызывает сомнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Титовой Ксении Александровны «Лабораторные модели на основе мышей для оценки защитной эффективности препаратов от натуральной оспы», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология, является завершённой квалификационной научно-исследовательской работой, в которой была разработана

модельная биосистема на основе мышей различных линий для оценки эффективности кандидатных лечебно-профилактических препаратов от натуральной оспы.

Актуальность поставленных и решенных в ходе диссертационной работы задач, большой объем и качество проведенных научных исследований, новизна и высокая научно-практическая значимость полученных результатов, обоснованность приводимых выводов позволяют заключить, что представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, перечисленным в п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней" от 24.09.2013 №842 с изменениями от 21.04.2016 №335, а ее автор, Титова Ксения Александровна, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.10 – вирусология.

В.н.с лаборатории молекулярной микробиологии
ФГБУН ИХБФМ СО РАН,
e-mail: babkin@niboch.nsc.ru
Тел. +7 (383)363-51-57
к.б.н. Игорь Викторович Бабкин


И.В. Бабкин

Подпись И. В. Бабкина заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН к.х.н.




П.Е. Пестряков

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