

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, академика РАН Зверева Виталия Васильевича на диссертационную работу Плотниковой Марины Александровны на тему «Мультиплексные методы определения вирус-индуцированной экспрессии цитокинов на основе микрочипов и ПЦР», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность. Диссертационная работа Плотниковой Марины Александровны посвящена созданию и экспериментальной оценке мультиплексных методов определения вирус-индуцированной экспрессии цитокинов на основе микрочипов и ПЦР.

Цитокины являются ключевыми регуляторами межклеточных взаимодействий и при патологических и инфекционных процессах обеспечивают слаженную работу клеток иммунной системы. Уровень цитокинов, хемокинов и ростовых факторов изменяется как при инфекционных, воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, так и при инициации процессов восстановления и регенерации. Этот факт позволяет рассматривать цитокины в качестве перспективных биомаркеров различных заболеваний. Измерение уровня цитокинов в плазме крови пациента позволяет получить информацию о тяжести протекания болезни, эффективности проводимой терапии и об общем состоянии больного. Представленные на сегодняшний день наборы для определения цитокинов основаны преимущественно на иммуноферментных методах анализа. Изучение цитокинов на практике затруднено вследствие плейотропности их действия и эффекта формирования цитокиновых каскадов. Для корректной характеристики цитокинового статуса наиболее целесообразным является измерение нескольких цитокинов в одном эксперименте, в клинической же практике исследование, как правило, ограничено одним-двумя цитокинами.

В диссертационной работе соискателем разработаны три системы, позволяющие проводить мультиплексный анализ экспрессии цитокинов в

формате олигонуклеотидного и белкового микрочипов, а также методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. Разработанные методы позволяют проводить одновременный анализ экспрессии на уровне транскрипции и трансляции цитокинов IL1 β , IL2, IL4, IL6, IL10, IL12 β , IL18, IFN- γ и TNF. Это дает основание утверждать, что научная проблема, сформулированная в диссертации, является чрезвычайно актуальной, а её решение, предлагаемое соискателем, позволит реализовать важные задачи современной вирусологии и медицины.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Для выполнения поставленных научных задач, соискателем были сконструированы собственные тест-системы, которые были апробированы и верифицированы в процессе работы. Для тест-систем были определены основные показатели, характеризующие диагностические наборы, такие как специфичность, чувствительность и воспроизводимость. Эти критерии сопоставимы с соответствующими значениями современных наборов-аналогов. Объём и тщательность проводимых экспериментов также подтверждают обоснованность полученных выводов.

Оценка новизны и достоверности

Наряду с разработкой тест-систем в ходе исследования соискателем изучалась вирус-индуцированная продукция цитокинов различными клетками человека. В частности, были определены штамм-специфические различия в уровнях мРНК при инфицировании клеток A549 вирусами A/California/07/09 (H1N1pdm09), A/Victoria/361/11 (H3N2) и A/chicken/Kurgan/5/05 (H5N1). Результаты, представленные на защиту, в целом согласуются с данными, полученными другими авторами. Проведено исследование роли белка NS1 вируса гриппа A/Kurgan/5/05 (H5N1) в индукции цитокинового ответа в клетках A549. Близкие результаты были получены экспериментально в работах других авторов.

В качестве интересных научных результатов диссертантом выдвинуты положения об индукции вирусом гриппа A/California/07/09 (H1N1pdm09) в инфицированных клетках A549 мРНК цитокинов IL4 и IL10, но отсутствии во внеклеточной среде их белковых продуктов.

Практическая значимость. Результаты предлагаемых научных исследований имеют и важное прикладное значение. Разработанные автором диссертационной работы диагностические системы, предназначенные для определения цитокинов, найдут применение в медицине и биологии. Потребность практического здравоохранения в биочипах определяется необходимостью проведения исследований клинического материала одновременно на большое количество маркеров. Разработанные методы могут быть использованы в качестве основы для коммерческого производства цитокиновых биочипов, которые практически не представлены на Российском рынке систем диагностики.

Научно-исследовательская деятельность ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России сфокусирована на решение фундаментальных и прикладных задач в области вирусологии, эпидемиологии и инфекционной патологии, в том числе и исследовании иммунных свойств клеток при инфекциях, вызванных вирусами гриппа. Изучение роли цитокинов при заболеваниях, вызванных вирусами гриппа, а также при клинических исследованиях вакцинных препаратов против гриппа, является основополагающим как для понимания патогенеза инфекционного процесса, так и для оценки иммуногенных свойств вирусов.

Общая характеристика работы.

В целом, представленная диссертация выполнена на высоком научно-техническом уровне и представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему, связанную с разработкой, теоретическим обоснованием и экспериментальным применением систем диагностики цитокинов.

Структура работы построена в соответствии со сформулированными целями и задачами, логична и обоснована. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов и шести глав результатов и их обсуждения, выводов и заключения. На чужие материалы, использованные в диссертации, имеются ссылки.

Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли достаточную апробацию на 6 научно-технических конференциях, в том числе с международным участием, и опубликованы в 17 научных трудах соискателя, включая один 1 главу в монографии и 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Достойно выглядит личный вклад в проведённых теоретических и экспериментальных исследованиях, чувствуется хорошая теоретическая подготовка, практические навыки работы с современными приборами и оборудованием, математическая и компьютерная эрудиция.

Краткое содержание глав диссертационной работы, основные выводы и результаты представлены в автореферате, содержание которого полностью отражает содержание диссертации.

Замечания. Некоторые неточности и опечатки допущенные в представленной диссертационной работе не имеют принципиального значения и не влияют на ее высокий уровень и качество.

Заключение. На основании анализа диссертации, автореферата и опубликованных автором работ можно считать, что в целом диссертационная работа является законченным научным исследованием, выполненным на актуальную для медицинской науки тему.

Совокупность результатов, полученных лично автором, позволяет квалифицировать представленную работ как законченную кандидатскую диссертацию. Результаты работы в целом достоверны, выводы и заключения научно обоснованы. Опубликованные результаты отражают основное содержание работы.

Диссертационная работа в целом соответствует профилю 03.02.02, отвечает требованиям п.9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Плотникова Марина Александровна заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Академик РАН,
профессор, д.б.н.

Зверев В.В.

Подпись В.В. Зверева заверяю

Ученый секретарь НИИ вакцин и
сывороток им. И.И. Мечникова РАМН
к.б.н.



Андропова Н.И.