

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Павловой Екатерины Николаевны на тему: «Функциональная роль Р-гликопротеина в нормальных и инфицированных макрофагах человека при действии противотуберкулезных препаратов»
по специальности: 1.5.22 – клеточная биология.

Актуальность работы

Лечение туберкулеза легких является сложной задачей, и традиционно оно ориентировано на устранение самого возбудителя - бактерии *Mycobacterium tuberculosis*. Многие штаммы *M. tuberculosis* становятся устойчивыми к новым антибактериальным препаратам в очень короткие сроки, что крайне затрудняет лечение и повышает риск развития тяжелых и прогрессирующих форм туберкулеза. Так как Р-гликопротеин является транспортером, который выкачивает различные лекарственные вещества из клеток, включая используемые для лечения туберкулеза, то повышенная его активность может приводить к снижению эффективности лечения и в конечном счете развитию лекарственной устойчивости возбудителя. В связи с этим, исследование роли Р-гликопротеина при туберкулезе, особенно в макрофагах как клетках иммунной системы, которые поглощают и уничтожают бактерии, крайне актуально, так как это может раскрыть потенциальные мишени для новых терапевтических подходов в лечении данного заболевания.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Диссертационная работа Павловой Екатерины Николаевны, посвященная исследованию роли Р-гликопротеина в макрофагах человека, обладает не только теоретической, но и практической значимостью. В работе впервые было изучено влияние фармакологического ингибирования Р-гликопротеина Р-верапамилом на провоспалительный фенотип макрофагов как в процессе их дифференцировки, так и под воздействием противотуберкулезных препаратов. Было показано, что Р-гликопротеин опосредует секрецию провоспалительных цитокинов и тем самым оказывает влияние не только на формирование фенотипа макрофагов при их дифференцировке, но и на иммуномодулирующие свойства противотуберкулезных препаратов. Это исследование позволяет оценить возможность использования ингибиторов Р-гликопротеина для модуляции иммунного ответа и усиления эффективности лечения туберкулеза.

Анализ взаимосвязи между экспрессией гена *ABCB1*, кодирующего белок Р-гликопротеин, и экспрессией генов, регулирующих воспаление, позволили автору диссертационного исследования идентифицировать молекулярно-

генетические сигнатуры, ассоциированные с высокой активностью воспаления в легких больных при туберкулезе. Это исследование позволяет лучше понять молекулярные механизмы и сигнальные пути, обуславливающие не только высокую экспрессию гена *ABCBI*, но и высокую воспалительную активность в легких. Полученные результаты могут быть полезны при разработке терапевтических подходов повышения эффективности противотуберкулезного лечения и предотвращения повреждения легочной ткани, опосредованного высокой активностью воспаления.

Степень обоснованности научных положений и выводов и достоверность полученных результатов

Диссертационная работа выполнена с использованием современных методов молекулярной, клеточной биологии и гистологии. Анализ полученных данных проводился с помощью релевантных методов статистической обработки. Выводы в диссертационной работе соответствуют полученным результатам. По материалам диссертационной работы опубликовано 6 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых зарубежных и российских журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова; в 2 этих работах соискатель является первым автором. Результаты диссертационной работы были представлены на научных международных и всероссийских конференциях. Таким образом, данная диссертация по обоснованности выводов и научных положений, их достоверности и новизне полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы

Диссертационная работа составлена по традиционному плану и изложена на 124 страницах. Диссертация содержит 46 рисунков и 6 таблиц. Список литературы включает 226 источников. Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание диссертационной работы. В целом, диссертационная работа имеет хорошо воспринимаемую последовательную логическую структуру и написана в хорошем научном стиле.

Обзор литературы состоит из 3 глав, в которых подробно изложено современное состояние вопроса о структуре, функциях и роли Р-гликопротеина, о специфике воспаления при туберкулезе легких, а также об иммуномодулирующих свойствах противотуберкулезных препаратов. В конце обзора литературы приводится заключение, в котором соискатель не только тезисно излагает основные имеющиеся на сегодняшний день сведения по теме диссертационной работы, но и дополнительно обосновывает актуальность и значимость проведенного исследования.

В материалах и методах подробно описаны методические подходы к проведению как клинической, так и *in vitro* части диссертационного исследования, выполненного на моноцитарных клеточных линиях. Дизайн исследования по фармакологическому ингибированию Р-гликопротеина не только подробно описан и обоснован выбор используемых концентраций препаратов, но и представлен в виде схемы на отдельном рисунке, что существенно облегчает восприятие данной части экспериментальной работы.

Результаты диссертационной работы представлены в 6 главах. Полученные результаты адекватно проиллюстрированы в виде рисунков и таблиц и подробно описаны. В первой главе представлены результаты исследования клинической части работы по анализу экспрессии гена *ABCB1* и генов, регулирующих воспаление, в резекционных образцах легочной ткани больных туберкулезом легких в зависимости от активности специфического воспаления. Описана и проиллюстрирована морфологическая характеристика туберкулом с разной активностью воспаления. В последующих главах пяти главах представлены результаты *in vitro* части исследования, которые также подробно описаны и проиллюстрированы графиками и рисунками.

Обсуждение полученных результатов носит непротиворечивый характер и в целом демонстрирует умение соискателя анализировать и интерпретировать полученные результаты исходя из имеющихся в настоящий момент научных данных. Заключение суммирует полученные результаты в диссертационном исследовании и их теоретическую и практическую значимость. Выводы соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования.

Замечания, комментарии и вопросы к представленной работе

В целом работа производит очень хорошее впечатление. Автором работы проведено масштабное исследование, направленное на определение роли Р-гликопротеина в макрофагах человека и при туберкулезном воспалении. Но есть ряд вопросов к автору диссертационного исследования:

1. Исследование влияния противотуберкулезных препаратов и фармакологического ингибирования Р-гликопротеина было проведено только на клеточной линии ТНР-1. Могут ли иммуномодулирующие свойства препаратов отличаться в случае проведения данных экспериментов на макрофагах, полученных от различных доноров?

2. Для анализа влияния инфицирования ТНР-1 макрофагов на экспрессию генов был выбран только один срок – 24 часа, хотя автор в обсуждении полученных результатов говорит о том, что экспрессия гена белка Р-гликопротеина *ABCB1* может изменяться в зависимости от длительности инфицирования. Почему в работе не были исследованы другие сроки? Также

фенотип макрофагов после был определен только по изменению экспрессии генов, но не было проанализировано изменение секреции цитокинов.

3. Может ли на экспрессию гена *ABCBI* в макрофагах влиять вирулентность штамма *M. tuberculosis*?

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Павловой Екатерины Николаевны отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.22 – клеточная биология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Таким образом, соискатель Павлова Екатерина Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии,
ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»
Макарова Марина Витальевна

23.10.2023

Контактные данные: Тел.: +7 (499) 268-00-25; e-mail: cbt@zdrav.mos.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена

диссертация: 03.02.03 – микробиология (биологические науки)

Адрес места работы: 107076, Москва, ул. Стромынка, д.10

ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»,
отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии

Тел: +7 (499) 268-00-25; e-mail: cbt@zdrav.mos.ru

Подпись сотрудника ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

М.В. Макаровой удостоверяю:

ученый секретарь ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»

доктор медицинских наук

Иванова Диана Александровна

