

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера

д.м.н., акад. РАН

А.А. Тотолян

«22» сентября 2022 г.

М. П.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Марченко Владимира
Александровича

на тему: «Функциональная активность кровеносных сосудов при
экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09»,
представленной к защите на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Актуальность темы диссертационного исследования и ее связь с планами отраслевой науки

Диссертационная работа Марченко В.А. посвящена исследованию влияния гриппозной инфекции на состояние и функционирование кровеносных сосудов.

Проявления гриппозной инфекции весьма разнообразны и включают клинические синдромы, затрагивающие не только органы-мишени - верхний и нижний отделы респираторного тракта. Так, например, цитокиновый шторм, приводящий к полиорганной недостаточности, представляет собой потенциально смертельную неконтролируемую активацию иммунных клеток, сопровождающуюся гиперпродукцией более 150 воспалительных цитокинов и медиаторов. Такое состояние при отсутствии коррекции может приводить к тяжёлым патологическим осложнениям, таким как сепсис, шок, повреждение тканей, отёк и смерть. Цитокиновый шторм (гиперцитокинемия) сопровождает многие патологии, вызываемые вирусами, такими как вирус гриппа, вирусы Эбола, Марбург, Конго-крымской геморрагической лихорадки и др. Несмотря на тяжесть и потенциально смертельный исход этих заболеваний, цитокиновый шторм редко используется в качестве мишени для диагностики и лечения этих патологий. Кроме того, проявления гриппа могут иметь и другое системные эффекты, такие как влияние на систему гемостаза, а также сердечно-сосудистую систему, в том числе за счет непосредственного инфицирования клеток эндотелия.

Таким образом, тяжесть инфекционного процесса при гриппе обусловлена не только прямым поражающим действием вируса, но и запускаемыми реактивными процессами, которые впоследствии становятся ведущими факторами, определяющим тяжесть заболевания. Важно, что механизмы воздействия вируса гриппа на систему гемостаза и сосудистый эндотелий до сих пор остаются недостаточно изученными, тогда как их понимание позволяет усовершенствовать схемы лечения гриппа. В этой связи выполненная диссертационная работа является высоко актуальной. Полученные В.А. Марченко данные указывают на развитие дисфункции эндотелия при гриппе, что может являться причиной развития сердечно-сосудистой патологии. Полученные в ходе исследования результаты позволяют рекомендовать существующие, а также разрабатывать новые ангиопротекторы для включения их в комплексную схему лечения гриппа наряду с этиотропными и противовоспалительными препаратами. Особенно это важно для лиц с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

Актуальность выбранной темы не вызывает сомнений. В результате проведенных исследований получены новые данные о функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09. Отдельное внимание уделено исследованию патогенеза гриппозной инфекции на фоне сопутствующей экспериментальной кардиомиопатии и ее роли в тяжести патологического процесса.

Впервые установлено, что вирус гриппа А(Н1N1)рdm09 вызывает изменения уровня экспрессии эндотелиальных факторов в культуре клеток эндотелия EA.hy926 и эндотелии кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс с острой кардиомиопатией и без нее. Так, показано, что вирус гриппа при инфицировании животных с кардиомиопатией значительно усиливает дисфункцию эндотелия, что отражается в существенных изменениях вазомоторной активности артерий брыжейки и уровня экспрессии эндотелиальных факторов. Впервые установлено, что при гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09, наблюдается системное патологическое воздействие на кровеносные сосуды, что проявляется в системном эффекте - изменении вазомоторной активности кровеносных сосудов не только легких, но и брыжейки крыс.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основные положения диссертации, выносимые на защиту, отражающие научную новизну и практическую значимость работы, хорошо аргументированы. Результаты исследований подтверждены статистическим анализом с применением адекватно подобранных критериев описательной и аналитической статистики. Основные материалы диссертационной работы доложены на 9 отечественных конференциях и конгрессах, в том числе с международным участием. По теме диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 3 научные статьи (2 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации, 1 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования), а также 7 тезисов докладов российских конференций и конгрессов, в том числе с международным участием. Полученные в работе результаты можно будет использовать для дальнейшего совершенствования и внедрения системы комплексной терапии гриппа, в особенности тяжелых и осложненных его форм, с использованием препаратов, ориентированных не только на подавление репродукции вируса, но и на другие факторы патогенеза гриппа, в частности, на поддержание структурной и функциональной целостности сосудов..

Содержание диссертации

Диссертационная работа состоит из введения; обзора литературы; обширной главы, описывающей результаты собственных исследований; заключения, содержащего обсуждение полученных данных в сравнении с имеющимися по данной проблеме научными фактами; выводов, списка сокращений и списка литературы. Диссертация изложена на 166 страницах текста, список литературы содержит 312 работ, в том числе 21 – отечественных авторов и 291 – зарубежных авторов. Текст диссертации иллюстрирован 16 таблицами и 34 рисунками.

Первая глава посвящена обзору научных публикаций по основной теме работы за период 1952-2021 гг. и их анализу. Автором подробно описаны строение и жизненный цикл вируса гриппа, патогенез гриппозной инфекции, особенности реакций организма, включая механизмы врожденного противовирусного иммунитета. Отдельно описана роль эндотелия в патогенезе гриппозной инфекции и воспалительной реакции, а также в регуляции гемостаза и тонуса сосудов. Следует отметить, литературный обзор написан четко, логично, что является безусловным достоинством работы. Изложение материала помогает глубже познакомиться с проблемой и потому специальных комментариев не требует.

Во второй главе представлена информация об использованных в работе материалах и методах исследования. Из представленной информации видно, что в работе использован широкий спектр физиологических, молекулярно-биологических, вирусологических, морфологических и иммунологических методов. Так, инфекционная активность вируса гриппа оценена при помощи реакция титрования на клетках и гемагглютинации, адаптация вируса к организму крыс

проведена при помощи последовательных пассажей на животных, для изучения гистопатологических изменений в тканях и кровеносных сосудах использованы методы морфологического анализа, детекция специфических антигенов в культуре клеток и в структуре ткани проведена при помощи иммуноферментного, иммуноцит- и иммуногистохимического анализа. В отдельной серии физиологических экспериментов оценена функциональная активность кровеносных сосудов. Количественная оценка экспрессии специфических антигенов проведена при помощи современных морфометрических методик.

В 3 главе представлены результаты изучения строения и функционирования кровеносных сосудов в условиях гриппозной инфекции, в том числе на фоне кардиомиопатии. Для этого, при моделировании экспериментальной гриппозной инфекции на крысах, В.А. Марченко провел исследование функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки животных при инфицировании вирусом гриппа A(H1N1)pdm09. В ходе исследований убедительно показано, что при инфицировании животных уже через 24 часа появляются изменения в вазомоторной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки. Кроме того, зарегистрированы морфологические изменения сосудов легких и обнаружены изменения в экспрессии ряда эндотелиальных факторов в эндотелии и плазме крови. Указанные изменения сохраняются через 4 суток после инфицирования.

В главе «Заключение» приведена трактовка представленных результатов, описывается, насколько использованные методы и полученные в работе данные соответствуют методикам и результатам, полученным ранее в других лабораториях, а также представлены гипотезы о взаимосвязи ранее полученных результатов других исследований с данными собственных экспериментов.

Выводы составлены четко и логично вытекают из материалов диссертации. Автореферат диссертации адекватно отражает её основные положения. Апробацию результатов работы следует признать достаточной: по материалам диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 3 научные статьи (2 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации, 1 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования), а также 7 тезисов докладов российских конференций и конгрессов, в том числе с международным участием.

Принципиальных замечаний по существу диссертации нет.

Из недочетов работы следует указать следующие.

Задача 2 сформулирована как «Отработать методику получения адаптированного вируса...». На наш взгляд, методика адаптации вируса к организму животных путем последовательных пассажей в ткани легких отработана давно.

Логичнее было бы сформулировать задачу как «Получение адаптированного штамма вируса...».

На стр.24 ингибиторы сигнального пути NF-kB названы белками, тогда как химически они представляют собой низкомолекулярные соединения.

Часть рисунков (рис. 9, 12 и др.) названы «Гистологическое исследование кровеносных сосудов...». Корректнее было бы назвать их «Структура кровеносных сосудов...».

Раздел «Заключение» слишком большой по объему, а по содержанию скорее соответствует разделу «Обсуждение», которого в работе нет.

Перечисленные замечания не носят принципиального характера, а касаются лишь технических и оформительских аспектов работы. Из достоинств диссертации следует отметить высокий уровень владения автором литературным языком и очевидную орфографическую грамотность при изложении материала.

К автору работы имеется несколько вопросов.

1. Какой, по мнению автора, биологический смысл несет гомология белков вируса гриппа и эндотелиальных факторов?

2. Чем автор объясняет столь резкий подъем экспрессии PAI-1 через 18 часов после инфицирования на общем фоне снижения этого показателя?

3. На каком сроке проводили забор материала для определения вирусной нагрузки в легких? Если, как указано в разделе «Материалы и методы», через 24 часа после заражения, то чем автор объясняет отсутствие клинических симптомов инфекции и морфологических изменений при таком высоком титре вируса в легких?

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные в работе результаты можно будет использовать для разработки и оптимизации комплексных схем лечения гриппа, в особенности патологии с отягощенным течением. Разработка и применение ангиопротекторов, направленных на различные мишени и обладающих различными механизмами корректирующего действия сможет послужить весомым вкладом в развитие терапевтических протоколов для достижения оптимальных результатов при лечении гриппозной инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа диссертации Марченко Владимира Александровича на тему: «Функциональная активность кровеносных сосудов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09», представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалификационную работу, по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической

значимости отвечающую требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Марченко Владимир Александрович, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии по вирусологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», протокол № 6/22 от «26» сентября 2022 года.

Заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии
ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Пастера», д.б.н.



И.Н. Лаврентьева

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14. Телефон +7(812)233-20-92

<https://www.pasteurorg.ru/>