

## **ОТЗЫВ**

на автореферат диссертации Бродской Александры Валерьевны на тему: «Разработка противовирусной композиции малых интерферирующих РНК для ингибирования репродукции вируса гриппа А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.02 – Вирусология

### **Актуальность проблемы**

Вирусные инфекции являются одной из основных причин смертности среди людей, как в развитых, так и развивающихся странах со слабой системой здравоохранения. Грипп - одна из значимых причин заболеваемости и смертности у людей - по-прежнему является неконтролируемой инфекцией и огромной проблемой для органов здравоохранения большинства государств. Несмотря на наличие разнообразных противогриппозных вакцин, проблема предотвращения ежегодных эпидемий и пандемий гриппа остается нерешенной. Ежегодные эпидемии не только отрицательно влияют на социальную и экономическую сферы жизни людей, но и приводят к смерти сотен тысяч людей даже в охваченных вакцинацией развитых странах. В связи с особенностями строения генома вирус гриппа имеет высокий потенциал к реассортации генов, приводящей к изменению биологических свойств возбудителя, что затрудняет создание вакцин. К настоящему времени для лечения гриппа существует весьма ограниченная группа противовирусных препаратов. При этом следует отметить, что практически ко всем химиопрепаратам выявлены резистентные штаммы вируса. В связи с этим существует потребность в создании принципиально новых препаратов, способных обойти эту проблему. Прогресс в молекулярной биологии за последние 20 лет позволил внедрить в клиническую практику лекарственные препараты на основе рекомбинантных белков и моноклональных антител. Препараты на основе олигонуклеотидов также имеют определенный потенциал для использования в клинике. Одним из направлений является создание противовирусных препаратов на основе малых интерферирующих РНК (миРНК).

В связи с этим исследования по разработке принципиально новых подходов к терапии гриппа и других вирусных инфекции с использованием механизма РНК интерференции, а также решение проблемы безопасной доставки препаратов в инфицированные клетки являются актуальными для молекулярной вирусологии и практической медицины.

Оценивая **степень разработанности темы**, следует отметить, что препараты на основе миРНК, как правило, разрабатываются для лечения рака, инфекционных заболеваний и других патологий, которые ассоциированы с нарушениями в функциях специфических генов. Большое количество препаратов проходит на данный момент доклинические испытания. С момента открытия миРНК и до настоящего времени инициировано более 30 клинических испытаний с использованием 21 лекарственного препарата в отношении 14 заболеваний различной этиологии, в том числе 4 из них в отношении вирусных инфекций. Широкий спектр исследований проводится по тестированию различных миРНК для подавления гриппозной инфекции, вызванной различными подтипами вируса гриппа А (ВГА). Значительные достижения в области вычислительной биологии позволяют разрабатывать двуцепочечные РНК, которые обеспечивают максимальное снижение экспрессии гена-мишени и обладают минимальными побочными эффектами.

Вместе с тем одна из главных проблем разработки лекарственных препаратов на основе миРНК – их эффективная и безопасная доставка в клетки-мишени - пока остается нерешенной. Кроме того существенным препятствием в развитии методов терапии с помощью РНК-интерференции является то, что доставка малых интерферирующих (миРНК) пока крайне неэффективна и чрезвычайно высокие дозы препарата необходимы для достижения даже минимально значимого нокдауна гена-мишени. Не менее важное ограничение – необходимость контроля специфичности используемых миРНК и снижение неспецифического влияния ее на другие гены. Несмотря на то, что появляются новые исследования на культурах

клеток, подтверждающие потенциальную возможность терапии лекарствами на основе компонентов системы РНК-интерференции, остаются нерешёнными вопросы относительно безопасности таких методов лечения. В том числе неочевидны последствия от побочных эффектов репрессии генов со сходными нуклеотидными последовательностями. Методы вычислительной геномики показывают, что подобные побочные эффекты ошибочного связывания составляют до 10%. Все рассмотренные факты исследуются и в настоящее время, что ограничивает потенциальные приложения методов РНК-интерференции для терапии. Из числа препаратов, использующих механизмы интерференции РНК, ни один пока не разрешен к применению.

Целью исследований, предпринятых автором рассматриваемой диссертации, являлась разработка комбинации миРНК и системы ее доставки для эффективного ингибирования экспрессии генов вируса гриппа А человека *in vitro*.

В результате проведенных автором исследований был проведен подбор миРНК, направленных на консервативные области генов PA и NP ВГА. Были подобраны 11 ранее не описанных в литературе миРНК и выбраны миРНК с наибольшей противовирусной активностью - PA-1630 и NP-717. Исследования по выбору носителей для доставки миРНК позволили выбрать наиболее оптимальный комплекс агентов. Показан противовирусный потенциал комбинации трех миРНК (PA-1630, NP-717 и NS-777), инкапсулированных в SiO<sub>2</sub>-МК, сопоставимый с эффективностью осельтамивира. Изучена эффективность разработанного препарата в отношении некоторых подтипов вируса гриппа А.

На защиту автором вынесено 3 положения, которые подкреплены результатами экспериментальных исследований и отражены в выводах.

**Научная новизна** проведенных исследований состоит в том, что автором впервые подобраны миРНК, направленные на подавление экспрессии генов ВГА, кодирующие белки NP, PA, PA-N155, PA-N182 и PA-X, обладающие противовирусной эффективностью *in vitro*. Разработана

композиция трех миРНК, инкапсулированных в гибридные полиэлектролитные микрокапсулы с поверхностью, модифицированной частицами SiO<sub>2</sub>. Показано эффективное применение разработанного препарата для подавления репродукции ВГА in vitro.

**Теоретическая и практическая значимость** полученных результатов состоит в разработке эффективной внутриклеточной доставки миРНК, обладающих высокой противовирусной эффективностью.

Полученные результаты исследований противовирусной эффективности миРНК, системы ее доставки и модификации, возможно, могут быть в перспективе использованы при разработке фармакологической формы препарата, предназначенного для профилактики и лечения гриппа А у человека.

Разработанные технологии позволяют надеяться, что в скором времени этот способ терапии войдет в клиническую практику при условии более глубокого понимания механизмов взаимодействия новых препаратов с клеткой и организмом.

Полученные результаты, научные положения, выводы и рекомендации, отраженные в автореферате, достоверны, что подтверждается представленными экспериментальными данными, обработанными статистическими методами, использованием стандартизованных методов исследования.

В автореферате отражены основные идеи и выводы диссертации, показан вклад автора в проведенное исследование, содержатся все необходимые сведения, в том числе список публикаций автора, в которых отражены основные научные результаты диссертации. Данный список включает 5 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК для опубликования результатов диссертаций.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК. Вместе с тем следует отметить, что в автореферате оформление таблицы и рисунков не соответствует ГОСТу (ГОСТ 2.105,

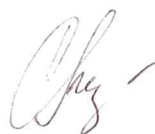
пункты 4.2.21, 4.5.1, 4.3.1 соответственно). В таблице не представлены результаты оценки эффективности известных высокоэффективных препаратов в качестве положительного контроля. Не соответствует экспериментальным данным заключение об универсальности действия разработанного препарата: эффективность препарата оценена в отношении только 6 возбудителей гриппа А, при этом в отношении 2 возбудителей - эффективность не выявлена (стр. 22). В 5-ом выводе следовало бы конкретно указать эффективность изученного препарата в отношении каждого подтипа ВГА.

**Заключение:** автореферат Бродской Александры Валерьевны на тему: «Разработка противовирусной композиции малых интерферирующих РНК для ингибирования репродукции вируса гриппа А», на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для медицинской вирусологии, соответствует пунктам 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842. Соискатель достоин присуждения искомой ученой степени по специальности 03.02.02 - Вирусология.

**Отзыв составила:**

доктор биологических наук, ведущий  
научный сотрудник отдела опасных  
вирусных инфекций ФГБУ «48 ЦНИИ»  
Минобороны России

«14» мая 2018г.



С.Я. Логинова

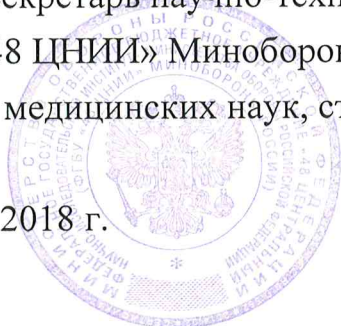
**Организация:** ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Почтовый (юридический) адрес: 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, Октябрьская, д. 11, тел. 8-496-552-12-06.

**Автор отзыва:** Логинова Светлана Яковлевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела опасных вирусных инфекций ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

**Подпись С.Я. Логиновой заверяю:**  
Ученый секретарь научно-технического совета  
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России  
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

«14» мая 2018 г.



В.П. Краснянский