

**ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА  
ЛАРИОНОВОЙ НАТАЛЬИ ВАЛЕНТИНОВНЫ**

*на диссертационную работу Бродской Александры Валерьевны  
«Разработка противовирусной композиции малых интерферирующих  
РНК для ингибирования репродукции вируса гриппа А», представленную  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.02.02 – вирусология*

**Актуальность темы выполненной работы**

Значительные успехи вирусологии в познании структуры, репродукции, генетики и иммунологии вируса гриппа не привели до сих пор к существенному прогрессу в борьбе с самим заболеванием. По данным ВОЗ ежегодные эпидемии приводят примерно к 3-5 миллионам случаев тяжелой болезни и примерно к 250-500 тысячам случаев смертельных исходов, ложатся тяжелым бременем на экономику стран. Вирусная и вторичная бактериальная пневмонии – серьезные осложнения гриппозной инфекции и частая причина смертности лиц пожилого возраста, маленьких детей и людей, страдающих хроническими сердечно-легочными патологиями. Возникновение пандемий гриппа не поддается прогнозированию, и угроза пандемии, подобной «испанке», унесшей в 1918/19 гг. 40-50 миллионов жизней, продолжает существовать. Все эти причины определяют актуальность разработки средств защиты от гриппа.

Особую актуальность приобретают этиотропные противовирусные препараты, когда, по ряду причин, может быть затруднена вакцинопрофилактика. Такими причинами могут быть: несоответствие вакцины сезонному возбудителю, противопоказания к использованию вакцин пациентами, страдающими хроническими заболеваниями, нарушениями функций иммунной системы, а также в случаях неосмотрительного отказа от вакцинации.

Для успеха применения этиотропных противогриппозных препаратов важно преодолеть быстро развивающуюся к ним резистентность.

Перспективным направлением является создание ингибиторов вирусной репродукции на основе малых интерферирующих РНК (миРНК), которые разрабатываются для высококонсервативных фрагментов генов, кодирующих внутренние белки вируса гриппа, не подверженные стремительному антигенному дрейфу. Однако проблема эффективной и нетоксичной доставки молекул миРНК в клетку и обеспечения длительной защиты их функционально активного состояния является основным препятствием практического применения таких препаратов.

В связи с изложенным, представляемое диссертационное исследование, цель которого заключалась в разработке комбинации малых интерферирующих РНК в комплексе с разработкой эффективной системы их доставки в клетку для ингибирования экспрессии генов вируса гриппа А человека, несомненно является актуальным и значимым исследованием, имеющим неоспоримое фундаментальное и практическое значение.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа построена по традиционному плану, и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследований и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы». Во введении автором обоснована актуальность исследований, сформулированы цель и задачи работы, ее научная новизна и практическая значимость. Обзор литературы включает три главы, изложенные на 37 страницах, представлен на современном научном уровне и глубоко раскрывает проблему исследования. Раздел «Материалы и методы» демонстрирует владение автором широким диапазоном современных методов вирусологических и молекулярно-генетических исследований. Раздел «Результаты исследований и их обсуждение» включает 6 глав, изложен на 39 страницах содержит подробное описание полученных результатов и их вдумчивое осмысление. Диссертация написана хорошим литературным языком, изложена на 115 страницах

машинописного текста, включает 7 таблиц, 35 рисунков. Список литературы состоит из 130 цитируемых отечественных и зарубежных источников.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Достоверность и объективность выносимых на защиту положений и выводов диссертации подтверждается комплексным подходом к проведению исследований, выполненных с использованием современных вирусологических и молекулярно-генетических методов, статистической обработкой результатов и разносторонним их осмыслением.

В автореферате в традиционно сжатой форме приведены: актуальность исследования, степень разработанности темы, цель работы и основные задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследований, основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, степень достоверности и апробация работы, а также изложены основные результаты экспериментальных исследований, обосновывающих выводы диссертации.

### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Выполненная работа представляет собой теоретически значимое научное исследование, посвященное проблеме внутриклеточной доставки противовирусных миРНК в клетки.

Прикладной потенциал работы заключается в успешной демонстрации возможности применения инкапсулированных терапевтических миРНК, направленных на подавление экспрессии нескольких генов вирусов гриппа в опытах *in vitro* в отношении штаммов вируса гриппа А различных сероподтипов.

## **Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах**

По материалам диссертационных исследований автором опубликовано 17 печатных работ, в том числе 7 статей, из них 4 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 10 тезисов докладов.

Публикации автора полностью отражают диссертационные исследования.

## **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

В дальнейших исследованиях планируется использовать разработки автора для создания фармакологической формы препарата на основе миРНК, предназначенного для профилактики и лечения вирусной инфекции, вызванной вирусами гриппа А человека.

Предложенные автором подходы по эффективной внутриклеточной доставке миРНК с помощью гибридных микрокапсул планируется также использовать при разработке новых фармацевтических препаратов различного действия.

## **Вопросы и замечания по диссертации**

При детальном ознакомлении с диссертацией принципиальных замечаний по существу работы не возникло.

Что касается оформления работы, следует отметить, что список литературы составлен с отклонениями от требований ГОСТ 7.0.11-2011, встречаются единичные опечатки и неточности. Общее количество страниц диссертации, указанное в автореферате (118 страниц) отличается от реального (115 страниц), число цитируемых литературных источников, указанное в автореферате – 131, тогда как реальное – 130. Отсутствует требуемый по ГОСТ 7.0.11-2011 список таблиц и рисунков.

Однако эти недочеты не умаляют общего благоприятного впечатления от проведенных исследований, их изложения и в целом от работы.

**Вопрос:** Автор указывает на то, что малые интерферирующие РНК имеют обнадеживающие перспективы в качестве универсального препарата для

профилактики и терапии гриппозных инфекций. Возможен ли подбор единых миРНК, эффективных для вирусов гриппа А всех серотипов? Либо планируется идти по пути создания так называемых «коктейлей» из миРНК, оптимально специфичных для разных серотипов вирусов гриппа А?

### **Заключение**

Диссертационная работа Бродской Александры Валерьевны «Разработка противовирусной композиции малых интерферирующих РНК для ингибирования репродукции вируса гриппа А» представляет собой законченное самостоятельное научное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Сконструированы синтетические миРНК, направленные на консервативные области мРНК генов PA и NP. *In vitro* продемонстрировано их противовирусное действие в отношении вирусов гриппа А. Автором установлено, что гибридные SiO<sub>2</sub>-микрокапсулы обладают низкой цитотоксичностью и высокой инкапсулирующей способностью в отношении миРНК, обеспечивают длительную защиту миРНК от РНКаз, эффективную и быструю трансфекцию миРНК внутрь клетки и их полное высвобождение через 24 часа после введения. Показано, что препарат инкапсулированных в гибридные SiO<sub>2</sub>-микрокапсулы миРНК, направленных на подавление экспрессии генов NP, PA и NS вирусов гриппа А, обладает высокоспецифичным противовирусным действием в отношении серотипов H1N1, H1N1pdm09, H5N2, H7N9. Эффективность ингибирования вирусной репродукции в случае профилактического введения препарата, состоящего из комбинации трех миРНК, выше, чем эффективность каждого препарата в отдельности.

Исследования, выполненные автором, во многом носят приоритетный характер и обогащают практическую вирусологию. Результаты не вызывают сомнений ни по характеру методов оценки, ни по их интерпретации.

Выводы диссертационной работы полностью соответствуют поставленным задачам.

## Соответствие диссертации критериям пункта 9 Положения о присуждении учёных степеней

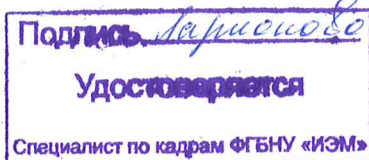
Диссертационная работа Бродской Александры Валерьевны «Разработка противовирусной композиции малых интерферирующих РНК для ингибирования репродукции вируса гриппа А» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством кандидата биологических наук Васина Андрея Владимировича. По актуальности темы, научному и методическому уровню исследований, качеству полученных результатов, объему осуществленной работы, по научной новизне и практической значимости результатов диссертационная работа отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Бродская Александра Валерьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Институт экспериментальной медицины»  
(ФГБНУ «ИЭМ»)



Н.В. Ларионова

Адрес: ул. Академика Павлова, 12,  
197376, Санкт-Петербург, Россия.  
Телефон: (812) 2344292,  
e-mail: nvlarionova@mail.ru



*Л.А. Егорова О.Д.*