

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ

Е.И. Ефимов

« 02 » февраля 2017 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации о диссертации Галочкиной Анастасии Валерьевны «Противовирусный потенциал антиоксидантных препаратов при лечении экспериментальной коксакивирусной инфекции у мышей»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

#### Актуальность темы исследования

Энтеровирусная инфекция – широко распространенное во всем мире явление, значимое в инфекционной патологии человека, преимущественно детей. Ежегодно в мире, в том числе и в России, регистрируется вспышки, эпидемические подъемы и спорадические случаи энтеровирусной инфекции с различными клиническими проявлениями, такими как вялый паралич, серозный менингит, экзантема полости рта и конечностей, герпангина, миокардит, ОКИ, ОРВИ. Известно, что отдельные штаммы энтеровируса могут являться прямой причиной дисфункции  $\beta$ -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, вызывать провоспалительные реакции и играть определенную роль в отсроченном индуцировании островковых аутоиммунных процессов. Как следствие, повреждение  $\beta$ -клеток поджелудочной железы может быть причиной возникновения сахарного диабета 1-го типа. Следует отметить, что вопрос взаимосвязи энтеровирусной инфекции с возникновением сахарного диабета 1-го типа в настоящее время активно изучается (Richardson S.J. et al., 2013; Larsson P.G. et al., 2015; Nonkanen H. et al., 2017), однако на сегодняшний день остается много вопросов и проблему в целом нельзя считать решенной. В то же время, получение новых знаний в этой области может иметь значение для разработки лекарственных препаратов,

позволяющих приостановить или ослабить процесс поражения тканей поджелудочной железы при энтеровирусной инфекции.

В настоящее время до конца не понятны механизмы повреждающего действия отдельных штаммов энтеровируса на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, одним из которых является окислительный стресс. По всей вероятности, введение в терапию энтеровирусной инфекции антиоксидантных препаратов может приостановить или ослабить процесс вирусиндуцированного повреждения клеток поджелудочной железы. Это делает научно- и практически значимыми исследования, направленные на изучение противовирусной активности антиоксидантов растительного происхождения в отношении вируса Коксаки В4 в модельной системе на мышах.

В связи с вышеизложенным, актуальность диссертационной работы Галочкиной Анастасии Валерьевны, целью которой явилась оценка терапевтического потенциала антиоксидантов растительного происхождения при лечении экспериментальной коксакивирусной инфекции, не вызывает сомнений.

#### **Научная новизна исследования, достоверность полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации**

В работе в бесклеточной системе с использованием восстановительной реакции с DPPH дана оценка антиоксидантной активности (АОА) препаратов растительного происхождения – дигидрокверцетина (ДКВ) и его комплексных соединений с металлами, а также экстрактов антиоксидантов ели сибирской (ЭА-ЕС). Достоверно показано, что наивысшей АОА обладают: ДКВ, ДКВ-Zn, фракция 6 экстракта антиоксидантов ели сибирской (ЭА-ЕС) и сам ЭА-ЕС. В культуре клеток *Vero* определены параметры цитотоксичности данных препаратов.

В результате проведенных автором исследований впервые для изучения патогенеза вирусного панкреатита, вызванного вирусом Коксаки В4, разработана и охарактеризована экспериментальная модель на белых беспородных мышах.

Впервые оценены противовирусные свойства широкого спектра антиоксидантных соединений растительного происхождения в отношении вируса Коксаки В4 *in vitro* и *in vivo*.

Впервые доказана противовирусная эффективность препарата ДКВ в отношении вируса Коксаки В4 *in vitro* и *in vivo*. Показано, что ДКВ снижает инфекционную активность вируса в опытах *in vitro*, причем противовирусное действие начинается уже на ранних стадиях инфекции. Впервые при помощи ЭМ анализа показана способность ДКВ ограничивать морфологические признаки вирусной репродукции на ультраструктурном

уровне. В экспериментах на животных впервые показано, что ДКВ снижает уровень активности вируса в ткани, а также степень проявления коксакивирусного панкреатита.

Впервые показано, что противовирусная активность ДКВ *in vitro* не связана с активацией системы IFN. Впервые показано, что протективное действие ДКВ сочетает в себе противовирусный и антиоксидантный эффект, что может объяснить его способность к ограничению вирусиндуцированного повреждения ткани ПЖ при панкреатите. При помощи серийного пассирования вируса Коксаки В4 в присутствии ДКВ впервые показана его неспособность вырабатывать резистентность. Создана платформа для дальнейших исследований синтетических и природных препаратов как эффективных противовирусных средств в отношении CVB4-индуцированного панкреатита.

На основании вышесказанного считаем, что научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, является несомненной.

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

Результаты исследования, полученные в работе Галочкиной А.В., вносят в клад в понимание механизмов противовирусного действия антиоксидантов растительного происхождения, в частности дигидрокверцетина (ДКВ) и дают возможность оценить перспективы создания комплексных противовирусных средств, в том числе на основе антиоксидантов.

Важным теоретическим моментом работы является доказательство независимости антиоксидантной и противовирусной активности ДКВ в отношении вируса Коксаки В4. Полученные результаты служат теоретической основой для включения ДКВ и других антиоксидантных соединений в комплексные схемы лечения Коксаки В инфекции.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в:

- идентификации и характеристике новых антиоксидантных противовирусных соединений, активных в отношении вируса Коксаки В4, который может запускать механизм развития диабета 1 типа;
- выявлении эффективного противовирусного препарата – дигидрокверцетина, активного в отношении вируса Коксаки В4;
- обосновании перспективности использования дигидрокверцетина в терапии вирусного панкреатита;

- создании экспериментальной животной модели для изучения вируса Коксаки В4, которая может быть использована для изучения противовирусной активности антиоксидантов в отношении других энтеровирусов.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Работа выполнена на высоком профессиональном уровне с использованием необходимых для качественного и количественного решения поставленных задач методов. Данные получены с помощью современных химических, вирусологических и физических методов на достаточном экспериментальном материале, подвергнуты статистической обработке. Их достоверность не вызывает сомнений. Представленные выводы полностью соответствуют поставленным задачам исследования, конкретны и логически вытекают из результатов экспериментов.

Диссертация оформлена в соответствии с рекомендациями ГОСТ 7.0.11-2011. Работа изложена на 113 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований и обсуждения полученных результатов, а также списка литературы, включающего 9 отечественных и 111 зарубежных источников. Диссертационная работа иллюстрирована 20 таблицами и 51 рисунком.

По теме диссертации опубликовано 6 работ, в том числе 4 статьи в 4-х реферируемых российских и международных журналах из списка ВАК и тезисах докладов на российских и международных конференциях. Материалы диссертации опубликованы полностью.

Принципиальных замечаний к материалам диссертации Галочкиной А.В. нет, однако в тексте встречаются орфографические и пунктуационные ошибки, повторения.

Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание и результаты работы, соответствующие специальности 03.02.02 – вирусология. Он построен по классическому принципу, четко, достоверно и в достаточной степени отражает все ключевые характеристики диссертационной работы, содержание ее разделов и степень участия соискателя в их выполнении. В то же время следует отметить, что содержание раздела «Актуальность темы» отличается от представленного в материалах диссертации.

В развитие дискуссии соискателю предлагается ответить на вопрос:

«Какое таксономическое положение в современной классификации энтеровирусов занимают вирусы Коксаки?».

### Заключение

Диссертация Галочкиной Анастасии Валерьевны «Противовирусный потенциал антиоксидантных препаратов при лечении экспериментальной коксакивирусной инфекции у мышей» является законченной научно-исследовательской работой, которая соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Диссертационная работа и отзыв обсуждены и одобрены на расширенном заседании лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций 30.01.2017 г (протокол № 1).

Заведующая лабораторией  
молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций  
д.б.н., профессор

Н.А. Новикова

Подпись Н.А. Новиковой заверяю:  
Ученый секретарь ФБУН НИИЭМ  
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора  
к.м.н. И.А. Евплова



**Сведения**  
**о ведущей организации по диссертационной работе Галочкиной Анастасии**  
**Валерьевны: «Противовирусный потенциал антиоксидантных препаратов при**  
**лечении экспериментальной коксакивирусной инфекции у мышей» на соискание**  
**ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 –**  
**вирусология**

Полное название организации: Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Сокращенное название организации: ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

Директор: Ефимов Евгений Игоревич, доктор медицинских наук, профессор.

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д.71

Телефон: +7 (831) 469-79-01

Факс: +7 (831) 469-79-20

E-mail: [micro@nniem.ru](mailto:micro@nniem.ru)

**Перечень**  
**опубликованных научных статей ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной,**  
**соответствующих теме кандидатской диссертации Галочкиной Анастасии**  
**Валерьевны: «Противовирусный потенциал антиоксидантных препаратов при**  
**лечении экспериментальной коксакивирусной инфекции у мышей»**

1. Голицына, Л.Н. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО 9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007-2009 г. / Л.Н.Голицына, С.Г.Фомина, Н.А.Новикова, Н.В.Епифанова, О.В. Парфенова, Л.Б.Луковникова, В.В.Зверев, Н.В.Пономарева, В.Н.Мазепа, Г.И.Григорьева, Е.И.Ефимов // *Вопр. вирусол.* - 2011. - Т. 56. - N 6. - С.37-42. (Web of Science, Scopus, РИНЦ, ВАК).
2. Фомина, С.Г. Мониторинг циркуляции энтеровирусов среди детей с острой кишечной инфекцией в Нижнем Новгороде в 2006-10 гг. / С.Г.Фомина, Н.А.Новикова // *Медицинский альманах.* - 2011. - N 4. - С.28-29. ( РИНЦ, ВАК).
3. Novikova, N.A. Detection of enteroviruses in patients with chronic pancreatitis / N.A.Novikova, L.N.Golitsyna, A.A.Bokarev, N.V.Neumoina, T.V.Larionova, K.M.Perfilova, O.V.Parfyenova, L.B.Lukovnikova, S.G.Fomina, N.V.Ponomareva. //19<sup>th</sup> United European Gastroenterology Week, October 22-26, Stockholm. - 2011 UEGW 11 - 1434.
4. Фомина, С.Г. Энтеровирусы у детей с острой кишечной инфекцией: молекулярно-эпидемиологические аспекты / С.Г.Фомина, Н.А.Новикова // *Инфекционные болезни.* - 2012. - Т. 10. - N 4. - С.12-18. ( РИНЦ, ВАК).
5. Новикова, Н.А. Молекулярный мониторинг неполиомиелитных энтеровирусов на европейской территории России в 2008-2011 гг. / Н.А.Новикова, Л.Н.Голицына, С.Г. Фомина, Е.И.Ефимов // *Журн. микробиол.* - 2013. - N 1. - С.75-78. (Web of Science, Scopus, РИНЦ, ВАК).
6. Голицына, Л.Н. Обнаружение, особенности циркуляции и разнообразие парэховирусов человека в Нижнем Новгороде / Л.Н.Голицына, В.В.Зверев, Н.А.Новикова, С.Г.Фомина, О.В.Парфенова, Н.В.Епифанова, Л.Б.Луковникова, О.В.Морозова, Н.В.Пономарева // *Вопр. вирусол.* - 2013. - Т. 58. - N 2. - С. 29-33. (Web of Science, Scopus, РИНЦ, ВАК).

7. Голицына, Л.Н. Молекулярно-генетическая характеристика эпидемически значимых энтеровирусов вида А / Л.Н.Голицына, С.Г.Фомина, О.В.Парфенова, Н.А.Калашникова, Н.А.Новикова // Медицинский альманах. - 2013. - N 2 (26). - С.96-99. (РИНЦ, ВАК).
8. Голицына, Л.Н. Применение генотипирования при мониторинге энтеровирусов – возбудителей серозного менингита / Л.Н.Голицына, С.Г.Фомина, О.В.Парфенова, Л.Л.Климова, Н.А.Калашникова, Н.А.Новикова // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2013. - N 2. - С.41-45. (РИНЦ)
9. Бичурина, М.А. Групповые заболевания энтеровирусной инфекцией, обусловленные вирусами Коксаки А16, на Северо-западе России / М.А.Бичурина, Н.И.Романенкова, Н.А.Новикова, Л.Н.Голицына, Н.Р.Розаева, О.И.Канаева, М.В.Ермакова, Л.С.Камынина, Е.А.Михайлова, Н.В.Валдайцева, Н.П.Леонова, Т.Г.Иванова // Журн. Микробиол. - 2014. – N 2. - С.51-59. (Web of Science, Scopus, РИНЦ, ВАК).
10. Голицына, Л.Н. Молекулярная характеристика эпидемического варианта вируса ЕСНО30-2013 / Л.Н.Голицына, Н.А.Новикова, С.Г.Фомина, О.В.Парфенова, Н.В.Епифанова, В.В.Зверев, Л.Б.Луковникова, О.В.Морозова, Т.А.Сашина, Е.И.Ефимов // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2014». Под ред. В.И.Покровского.- М. 2014. - Т.1. - С.416-417.
11. Фомина, С.Г. Энтеровирусы у детей с гастроэнтеритом / С.Г.Фомина, Н.А.Новикова // Ж. Медиаль электронный. - 2014. - N 2 (12). - С.58-71. (РИНЦ).
12. Голицына, Л.Н. Эпидемические варианты неполиомиелитных энтеровирусов в России / Л.Н.Голицына, В.В.Зверев, О.В.Парфенова, Н.А.Новикова// Медицинский альманах – 2015. - N 5(40). - С. 136-140. (РИНЦ, ВАК).
13. Голицына, Л.Н. Вирус Коксаки А6 в Российской Федерации в 2014 году / Л.Н. Голицына, В.В.Зверев, О.В.Парфенова, Н.В.Епифанова, Т.А.Сашина, А.Ю.Кашников, Г.И.Григорьева, Н.А.Новикова // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. - 2015. - N 28. - С. 12-20. (РИНЦ).
14. Голицына, Л.Н. Энтеровирусы в Российской Федерации в 2007-2015 гг./ Л.Н.Голицына, В.В.Зверев, Н.А.Новикова // Материалы научно-практической конференции. «Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе» (Новосибирск, Россия 26-27 сентября 2016 г.). Новосибирск: Издательство «АРЕАЛ», 2016. – С. 27-30. (РИНЦ).
15. Голицына, Л.Н. Распространение эпидемического варианта вируса ЕСНО30 Е30Н/2013RU-1 в Российской Федерации в 2014-2015 гг. / Л.Н.Голицына, В.В.Зверев, Т.А.Сашина, А.Ю.Кашников, Н.В.Епифанова, Н.А.Новикова // Материалы Всероссийской НПК микробиологов и эпидемиологов «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями» Нижний Новгород. - 2016. – С.41-43 (РИНЦ).

Заместитель директора по научной работе  
д.б.н., профессор

Подпись Г.И. Григорьевой заверяю:  
Ученый секретарь ФБУН НИИЭМ  
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора  
к.м.н. И.А. Евплова



Г.И. Григорьева