

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»
СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ
НАУК
(ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН)

197376, Санкт-Петербург
ул. Академика Павлова, 12

Телефон: (812) 234-6868, факс: (812) 234-9489
E-mail: iem@iemrams.ru

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Штро Анны Андреевны

«Исследование активности производных усниновой кислоты в отношении вируса гриппа»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.02 – Вирусология

Актуальность темы. Диссертационная работа Анны Андреевны Штро посвящена изучению противовирусного действия усниновой кислоты, являющейся биологически активным метаболитом лишайников, а также ее производных. Ранее была исследована активность препаратов усниновой кислоты против бактерий, простейших и вирусов, таких как вирусы герпеса, вирус папиломы человека, полио- и аренавирусы. В настоящее время наблюдается быстрое формирование устойчивости к этиотропной терапии у современных вирусов гриппа, когда более 90% штаммов вирусов гриппа устойчивы к ремантадину, от 25 до 45% штаммов A(H1N1)pdm чувствительны к ингибиторам нейраминидазы. В связи с этим поиск новых специфических противовирусных средств, а также универсальных препаратов для борьбы с гриппозной инфекцией, в том числе осложненной бактериальной пневмонией, является весьма актуальным.

В соответствии с целью работы автором были определены задачи исследования, включающие: изучение противовирусной активности отдельных соединений усниновой кислоты в опытах *in vitro*; установление протективной активности отдельных препаратов на модели летальной гриппозной пневмонии у белых мышей; выявление механизмов действия исследуемых препаратов на различных стадиях жизненного цикла вируса гриппа, а также их ингибирующих свойств в отношении вирусных нейраминидазы и гемагглютинина; изучение возможности формирования резистентных штаммов.

Личный вклад автора состоит в самостоятельном планировании и проведении всех лабораторных исследований, анализе и статистической обработке полученных

результатов. Автором лично проведен первичный скрининг противовирусной активности препаратов *in vitro*, исследования спектра активности препаратов, эксперименты на мышах, изучение динамики противовирусного действия, а также компьютерное моделирование взаимодействия препаратов с вирусными белками.

Диссертация изложена на 134-х страницах машинописного текста, включая 19 таблиц и 37 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, собственных исследований и обсуждения полученных результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена в соответствии с общими требованиями к оформлению кандидатских и докторских диссертаций, утверждёнными в ГОСТ Р 7.0.11–2011.

При написании «Обзора литературы» автором использованы работы в основном зарубежных авторов (список литературы содержит 127 источников, из них 11 на русском, 116- английском языках).

В главе «Материалы и методы» подробнейшим образом описаны использованные методы, в их числе - вирусологические, молекулярно-биологические, биохимические методики, современные методы компьютерного моделирования. В целом указанная глава свидетельствует, что работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных биотехнологий и средств компьютерной обработки данных.

В первой подглаве раздела «Результаты собственных исследований» выполнена оценка противовирусной активности исследуемых препаратов в клеточной культуре MDCK. Автором проведен первичный скрининг 95 соединений усниновой кислоты, 27 из которых оказались активными в отношении вируса пандемического гриппа A/California/7/09(H1N1pdm). Впервые выявлены закономерности влияния химической структуры соединений усниновой кислоты на их противовирусную активность, что позволило разработать рекомендации для дальнейшего улучшения противовирусных свойств этих препаратов. Изучение спектра противовирусной активности отдельных производных усниновой кислоты в отношении штаммов вируса гриппа подтипов A(H1N1), A(H3N2) и A(H5N2) показало, что исследуемые препараты имеют преимущество перед препаратами сравнения, такими как ремантадин и осельтамивир, в случае развития нечувствительности вирусов к последним.

В следующей части собственных исследований на модели летальной гриппозной пневмонии у мышей впервые показано, что производные усниновой кислоты обладают умеренной противовирусной активностью против вируса гриппа подтипа A(H3N2), адаптированного к мышьяной модели. Наиболее активным оказался препарат 575, валиновое производное енамина усниновой кислоты, внутрибрюшинное введение

которого снижало летальность в 2,5 раза и приводило к ограничению очагов пневмонии у зараженных животных.

При изучении стадий вирусной репродукции в присутствии производных усниновой кислоты установлено действие препаратов на ранних стадиях вирусной репродукции. При этом не обнаружено влияния препаратов на активацию гемагглютинаина при низких значениях рН. Впервые показано, что производные усниновой кислоты проявляют ингибирующую активность в отношении нейраминидазы вируса гриппа. С помощью компьютерного моделирования взаимодействия нейраминидазы с лигандом установлен сайт связывания производных усниновой кислоты с молекулой вирусной нейраминидазы I типа, что позволило разработать концепцию создания ингибиторов нейраминидазы на основе би- и три-циклических соединений.

Селекция и изучение вирусов, устойчивых к производным усниновой кислоты проводилась на модели лабораторного штамма A/PR8/34, который оставался чувствительным к препарату 575 после 13 пассажей.

Оценка гепатотоксичности усниновой кислоты и ее производного – препарата 575 показало, что аминокислотная модификация усниновой кислоты позволяет снизить ее токсичность для тканей печени, повышая в то же время противовирусные свойства.

Обсуждение полученных результатов написано в соответствии с логикой изложения диссертационных материалов. В данном разделе обобщаются полученные результаты, проводится сравнение с мировым уровнем исследований.

Выводы соответствуют основному содержанию работы.

Обобщая, хочу отметить следующее. Все выносимые на защиту положения и выводы достоверны и обоснованы экспериментальными исследованиями и анализом. Диссертационная работа Анны Андреевны Штро содержит ряд новых фундаментальных данных о строении и механизме противовирусного действия целого ряда производных усниновой кислоты, что определяет теоретическую значимость работы. Практическая значимость работы также не вызывает сомнений, поскольку результаты исследования открывают возможность создания новых противовирусных препаратов для борьбы с гриппозной инфекцией. Достоверность полученных автором экспериментальных данных обеспечивается большим объемом проведенных лабораторных исследований с применением современных методик и компьютерных программ. Выводы основаны на результатах проведенных исследований и вытекают из материалов диссертации.

Материалы диссертации отражены в 8 печатных работах, в том числе в 3 статьях в реферируемых журналах из списка ВАК, представлены на Российских и международных конференциях.

В качестве замечания к работе можно отметить слишком подробное описание некоторых общеизвестных методик в автореферате, что не умаляет общей значимости полученных данных и не влияют на высокую оценку проделанной работы.

Вопрос.

1. Ввиду того, что препараты усниновой кислоты обладают определенным уровнем гепатотоксичности при парентеральном введении, как это было показано в опытах на мышах, какие альтернативные пути введения указанных препаратов в качестве противовирусных средств можно рассматривать?

Заключение. Диссертация Анны Андреевны Штро «Исследование активности производных усниновой кислоты в отношении вируса гриппа» является вполне завершенным научно-исследовательским трудом. Новые научные данные, полученные диссертантом, имеют весьма существенное значение как для науки, так и для практики. Полученные автором результаты достоверны, положения и выводы достаточно обоснованы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. Опубликованные автором научные статьи полностью соответствуют теме диссертации. Работа базируется на большом числе исходных данных, написана хорошим литературным языком. Таким образом, диссертационная работа «Анализ эволюционной изменчивости и биологических свойств вирусов пандемического гриппа А(H1N1)pdm09, циркулировавших в России в период с 2009 по 2013 гг.» отвечает требованиям п.9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор – Штро Анна Андреевна – заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – Вирусология.

Официальный оппонент
Ведущий научный сотрудник
ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН
Д.м.н. Ю.А. Дешева.

01. 12. 2014

Подпись официального оппонента заверяю.

Подпись Дешевой Ю.А.
удостоверяется
Нач.отд.кадров
(ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН)