

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**Заслуженного деятеля науки РФ, доктора медицинских наук, профессора Афанасьева Станислава Степановича на работу Ивановой Ольги Сергеевны «Биотехнологические подходы разработки новых лекарственных форм аналога интерферона гамма», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)**

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Работа Ивановой Ольги Сергеевны посвящена актуальной проблеме - разработке лекарственных препаратов на основе аналога интерферона гамма. Инфекционные и онкологические заболевания занимают одно из первых мест в структуре заболеваемости населения в РФ и в мире. Отсутствие выраженного защитного эффекта вакцинопрофилактики в определенных группах населения, возникающая резистентность к некоторым лекарствам, недостаточная эффективность противовирусных и противоопухолевых препаратов обуславливают необходимость разработки новых лекарственных средств неспецифической резистентности, в частности, на основе интерферонов и их индукторов, поэтому тема диссертационного исследования Ивановой О.С. по разработке новых препаратов на основе аналога интерферона гамма - дельтаферона, обладающих улучшенными свойствами, весьма актуальна. Кроме того, в мире отсутствуют зарегистрированные лекарственные препараты на основе дельтаферона.

Автором обозначена цель, которая заключалась в разработке технологии получения новых лекарственных форм аналога интерферона гамма в составе средства доставки для противоинфекционной и противоопухолевой терапии. Определены задачи исследования адекватные для ее достижения.

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

Диссертационная работа Ивановой О.С. выполнена на сертифицированном оборудовании, с продуманной схемой экспериментальных исследований, в работе применялись оригинальные методы исследования. В рамках данной диссертационной работы были опубликовано 6 статей в реферируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований. Научные положения диссертации апробированы на 10 научных конференциях, материалы которых опубликованы в сборниках.

Большой охват зарубежных источников в обзоре литературы свидетельствует о высокой осведомленности автора в отношении данной проблемы в мировой научной литературе.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку автором выполнен большой объем исследований; выводы, научные положения и рекомендации, сформулированные в диссертации вполне обоснованы и логически вытекают из результатов исследований.

#### **Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов**

Соискатель впервые описала проведение процесса конъюгирования декстрана, белка дельтаферона и спермидина и выбрал оптимальные соотношения компонентов конструкции (дсРНК, дельтаферона) и подобрал технологические параметры: скорость перемешивания и внесения компонентов в реакционную среду, влияющие на размер частиц и специфическую активность образцов молекулярной конструкции.

Важным для интерпретации результатов является исследование структурных характеристик молекулярной конструкции, содержащей дельтаферон и дсРНК, методами ультрафиолетовой спектроскопии и кругового дихроизма.

Впервые в процессе гранулометрической характеристики образцов молекулярных конструкций, содержащих дельтаферон и дсРНК, автором было показано, что в результате сборки образуются относительно однородные по размеру сферические наночастицы. Впервые диссертантом было показано, что молеку-

лярная конструкция, содержащая дельтаферон, в дозе 50 тыс. МЕ на мышь повышает уровень ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$ , повышает противовирусную устойчивость мышей, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2).

Автором впервые разработана интраназальная форма дельтаферона в составе молекулярной конструкции. Показано, что препарат обладал повышенной противовирусной активностью в культуре клеток L-68, проявлял способность повышать уровень ИФН- $\alpha$  в тканях носоглотки, легких и крови мышей и выживаемость животных, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2). В диссертационной работе впервые установлена способность молекулярной конструкции, несущей дельтаферон и алендроновую кислоту, связываться с костной тканью в системе *in vitro*. На модели костных метастазов, индуцированных введением мышам клеток меланомы B16-F10, продемонстрированы противоопухолевые свойства Дельтаферона в составе конструкции.

#### **Практическая значимость полученных авторов результатов**

Результаты выполненной диссертационной работы имеют большое практическое значение. Автор на примере аналога ИФН- $\gamma$  доказала перспективность использования искусственной молекулярной конструкции в качестве транспортной формы терапевтических белков, обеспечивающей повышение их протеолитической стабильности. Важным практическим результатом является то, что на примере бифосфоната алендроновой кислоты показана возможность использования векторных молекул в составе оболочки конструкции для адресной доставки терапевтических белков в патологический очаг.

Диссертантом доказана перспективность создания на основе молекулярной конструкции, несущей Дельтаферон и дсРНК, нового лекарственного препарата для лечения гриппозной инфекции, для инъекционного и интраназального применения.

В соответствии с выше изложенным, основная практическая значимость работы связана с разработкой новых лекарственных препаратов для противовирусной и противоопухолевой терапии.

## **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Результаты и выводы диссертации являются существенным вкладом в область биотехнологических знаний. Разработанный методический подход может быть пригоден для получения препаратов и других терапевтических белков, экспонированных на поверхности молекулярной конструкции в сочетании с векторными молекулами, обеспечивающими их адресную доставку в патологический очаг.

### **Содержание диссертации, ее завершённость**

Диссертационная работа Ивановой О.С. представляет собой законченный, логически выстроенный научный труд и состоит из Введения, Обзора литературы, описания Материалов и методов исследования, Результатов исследований и их обсуждения, Выводов, Заключения и Списка литературы, содержащего 154 источника. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста, содержит 30 рисунков, 14 таблиц.

Во Введении автор раскрывает актуальность проблемы, четко формулирует цель исследования и определяет ряд конкретных задач, отражает научную новизну и практическую значимость выполненной работы; описывает апробацию работы.

Обзор литературы (глава 1) представляет собой развернутый анализ современных знаний по основным типам интерферонов и особенностям биологического действия интерферона гамма. Особое внимание уделено биотехнологическим способам получения интерферонов и лекарственным препаратам интерферонов. Отдельный раздел посвящен описанию современных подходов к разработке средств доставки терапевтических белков и технологическим аспектам получения препаратов интерферонов для непарентерального применения.

Глава 2 посвящена материалам и методам, содержит описание основных методов исследования, таких как изучение противовирусной активности препарата молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон, и его интраназаль-

ной формы, исследование противоопухолевой активности молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон и алендроновую кислоту, метод просвечивающей электронной микроскопии с использованием негативного контрастирования, способность к накоплению конструкций, содержащих Дельтаферон и алендроновую кислоту, в костной ткани в условиях *in vitro*.

В главе 3 описаны результаты и обсуждения проведенной диссертационной работы:

- разработана технология получения препарата - аналога интерферона гамма - Дельтаферона в составе двухслойной молекулярной конструкции, содержащей в центральной части двуспиральные РНК. Разработана технология получения лекарственной формы конструкции, содержащей Дельтаферон в средстве доставки, для интраназального применения.

- методами электронной микроскопии, спектрометрии и электрофоретического анализа продемонстрировано наличие в препаратах молекулярной конструкции частиц размером от 50 до 200 нм, имеющих форму, близкую к сферической, наличие в составе конструкций основных компонентов (Дельтаферон, дсРНК), сохранность их структурных характеристик и специфической активности. Установлено, что Дельтаферон и дсРНК в составе конструкции отличались повышенной устойчивостью к ферментативной деградации и стабильностью при хранении.

- установлено, что использованный подход позволил получить препараты Дельтаферона в средстве доставки, отличающиеся иммуномодулирующими (интерферон-индуцирующими) и противовирусными свойствами в отношении вируса гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2), не только сравнимыми с активностью исходного белка, но и по ряду показателей более выраженными.

- разработана технология получения препарата - аналога интерферона гамма - Дельтаферона в составе средства доставки - двухслойной молекулярной конструкции, содержащей на поверхности в качестве векторной молекулы бифосфат-алендроновую кислоту. Продемонстрирована сохранность структурных

свойств и биологической активности Дельтаферона в составе конструкции. Установлено повышенное сродство конструкции, содержащей Дельтаферон и алендроновую кислоту, к гидроксилapatиту, аналогу минерального матрикса костной ткани, по сравнению с исходным белком. На экспериментальной модели костных метастазов, вызванных введением клеток меланомы В16-F10, продемонстрирована выраженная противоопухолевая активность Дельтаферона в составе конструкции, содержащей алендроновую кислоту.

В Заключении автор привел логичный анализ результатов, полученных на всех этапах работы.

Основные положения, выносимые на защиту, и Выводы диссертационной работы соответствуют сформулированным целям и задачам работы, полностью отражают суть проведенных экспериментов, обоснованы достаточным фактическим материалом и являются логическим завершением представленной диссертационной работы. По результатам исследования опубликовано 15 работ, в том числе 8 статей, 6 из них - в журналах, входящих в перечень ВАК РФ. Материалы работы достаточно полно представлены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями, достаточно иллюстрирована рисунками и таблицами, написана понятным литературным языком. Содержание автореферата в краткой форме отражает содержание диссертационной работы, демонстрирует ее основные положения и выводы.

Возникшие в процессе изучения диссертации замечания носили редакционный характер, не являлись принципиальными и ни в коем мере не снижали научную и практическую значимость результатов представленной работы, а также не влияли на общую положительную оценку диссертации.

### **Заключение**


Диссертационная работа Ивановой Ольги Сергеевны на тему «Биотехнологические подходы разработки новых лекарственных форм аналога интерферона гамма», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических

наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи биотехнологии – разработка новых лекарственных препаратов на основе аналога интерферона гамма для противовирусной и противоопухолевой терапии.

Диссертация Ивановой О.С. соответствует по актуальности, научной и практической значимости полученных результатов требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент:

Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор,  
ФБУН «Московский научно-исследовательский  
институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора  
доктор медицинских наук,  
профессор



Афанасьев Станислав Степанович

Подпись С.С. Афанасьева заверяю  
Начальник отдела кадров  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричев-  
ского Роспотребнадзора



Т.М. Лазунина

Федеральное бюджетное учреждение  
науки «Московский научно-исследовательский  
институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора  
г. Москва, Северный административный округ,  
125212, улица адмирала Макарова, д.10.  
Телефон: +7 (495) 452-1816  
Факс (495) 452-1830  
Email: info@gabrich.com