

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента,
МАЛЬШЕВА Владимира Васильевича
на диссертационную работу Александра Андрея Георгиевича
на тему: «Влияние конечных продуктов гликирования на течение острого
повреждения легких, вызванного вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальностям
1.5.10 – вирусология
3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность избранной темы диссертационного исследования

Установлено, что наиболее тяжёлая форма течения гриппозной инфекции наблюдается при инфицировании вирусом гриппа типа А. Из всех подтипов вируса гриппа А ключевыми для человеческой популяции являются подтипы Н1N1 и Н3N2. При тяжелом течении заболевания у пациентов развивается острое повреждение лёгких (ОПЛ) и острый респираторный дистресс синдром (ОРДС), в основе которого лежит системная воспалительная реакция. В период пандемии гриппа А(Н1N1)pdm09 в 2009 году по данным ВОЗ количество больных с такими осложнениями гриппа составило от 10 до 30% от числа всех заболевших. Эта категория больных, как правило, находилась в отделениях реанимации и интенсивной терапии, однако несмотря на проводимую терапию, летальность среди данного контингента доходила до 30 %. Указанное выше, несомненно, свидетельствует об актуальности изучения роли конечных продуктов гликирования (КПГ) в патогенезе ОПЛ, обусловленного гриппозной инфекцией, с целью разработки подходов к поиску средств, направленных на снижение их накопления.

Особенностью течения ОПЛ и ОРДС вирусной природы является недостаточная эффективность терапии, включающей в себя комплекс противовирусных препаратов, глюкокортикостероидов и др., что и явилось отправной точкой исследования и обусловило необходимость разработки новых подходов к фармакологической коррекции данной патологии. Диссертантом была сформулирована концепция, заключающаяся в поиске средств,

регулирующих течение системной воспалительной реакции путем влияния на различные молекулярные механизмы индукции воспаления. В качестве возможных мишеней действия лекарственных средств рассматривались Toll-подобные рецепторы, аденозиновые А₂ рецепторы, белок RIG-1 и инфламасома. В настоящее время установлена роль лигандов рКПГ в развитии системного воспаления, как в клинике, так и в эксперименте. В отечественной и иностранной литературе работы по изучению возможности ограничения процесса воспаления блокаторами накопления КПГ представлены недостаточно полно. Тема диссертационного исследования соответствует требованиям сегодняшнего дня.

Александров А.Г. определил цель диссертационного исследования как изучение роли конечных продуктов гликирования в патогенезе вирус-индуцированного острого повреждения легких с обоснованием возможности использования средств, ограничивающих их накопление, в экспериментальной терапии данного осложнения гриппозной инфекции. Для решения указанной цели необходимо было решить ряд задач, а именно: - провести экспериментальное моделирование острого повреждения лёгких в условиях заражения мышей вирусами гриппа A/California/07/2009MA (mouse-adapted) (H1N1)pdm09 и A/Aichi/2/68MA (H3N2) и охарактеризовать его развитие по показателям летальности, степени насыщения гемоглобина крови кислородом, выраженности повреждения легочной паренхимы и процесса воспаления; - оценить роль конечных продуктов гликирования в формировании острого повреждения лёгких вирусного генеза; - изучить влияние предшественника конечных продуктов гликирования метилглиоксаля на течение острого повреждения лёгких у мышей при гриппозной инфекции; - изучить влияние блокатора процесса накопления конечных продуктов гликирования аминоксидина бикарбоната на течение острого повреждения лёгких у мышей при гриппозной инфекции; - провести экспериментальное моделирование сахарного диабета у мышей до заражения вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 и охарактеризовать особенности течения острого повреждения лёгких при

наличии сопутствующей патологии; - оценить возможность коррекции вирус-ассоциированного острого повреждения лёгких, отягощённого сопутствующим аллоксан-индуцированным сахарным диабетом, путём применения аминогуанидина бикарбоната.

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

Диссертантом были вынесены на защиту два положения:

- Избыточное образование конечных продуктов гликирования является одним из важных звеньев патогенеза острого повреждения легких при тяжелой гриппозной инфекции у мышей.
- Лечебно-профилактическое применение блокатора образования конечных продуктов гликирования аминогуанидина бикарбоната обеспечивает протективный эффект в отношении основных биомаркеров острого повреждения легких при гриппозной инфекции у мышей, в том числе при сопутствующем сахарном диабете.

Научные положения сформулированы правильно, с учетом полученных результатов. Безусловно, диссертантом в работе подняты фундаментальные вопросы вирусологии и фармакологии, и все это подводит к практической реализации, связанных с отбором эффективных фармакологических средств для устранения осложнений гриппозной инфекции. Впервые дана оценка роли накопления КПГ в легких на течение ОПЛ, обусловленного заражением мышей вирусами гриппа A/California/07/2009MA (H1N1)pdm09 и A/Aichi/2/68MA(H3N2). Впервые установлена значимая корреляционная зависимость между уровнем КПГ и специфическими биомаркерами ОПЛ/ОРДС (степень насыщения гемоглобина крови кислородом и повреждения легочной паренхимы, уровень провоспалительных цитокинов в легких), что выявило роль первых в патогенезе вирус-индуцированного ОПЛ. Впервые установлено, что предшественник накопления КПГ метилглиоксаль (МГ) вызывает у мышей, зараженных вирусом гриппа A/California/07/2009MA

(H1N1)pdm09, утяжеление течения ОПЛ по показателям выживаемости, динамики величины сатурации гемоглобина кислородом, площади кровоизлияний и степени повреждения лёгких. Впервые установлено, что экспериментальная терапия блокатором накопления КПП аминоксидина бикарбонатом оказывает протективное действие в отношении ряда показателей, характеризующих степень тяжести ОПЛ, у животных, зараженных вирусом гриппа A/California/07/2009MA (H1N1)pdm09, в том числе, при сопутствующем сахарном диабете.

Достоверность результатов работы определялась адекватными вирусологическими, фармакологическими, физиологическими, иммунологическими, биохимическими и морфологическими методами исследования, корректными методами статистической обработки, проведением экспериментов в соответствии с национальными методическими документами и методическими рекомендациями ВОЗ.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в раскрытии роли КПП в патогенезе ОПЛ при экспериментальной тяжелой гриппозной инфекции, вызванной вирусами гриппа A/California/07/2009MA (H1N1)pdm09; A/Aichi/2/68MA (H3N2). Выявленная зависимость между уровнем накопления КПП и степенью тяжести течения болезни позволила обосновать необходимые подходы к фармакологической коррекции вирус-индуцированного ОПЛ. Научно обоснована эффективность коррекции течения ОПЛ при гриппозной инфекции с помощью блокатора накопления КПП аминоксидина бикарбоната, в том числе, при наличии сопутствующей патологии в виде СД. Позитивное воздействие последнего реализуется на уровне образования ковалентных связей с промежуточными продуктами перегруппировки Амандори с формированием устойчивого комплекса, что предотвращает их взаимодействие с аминоксидом белков и глико-липопротеинов. Практическая значимость работы заключается в экспериментальном обосновании разработки подходов к поиску средств, ограничивающих чрезмерное накопление КПП, с целью изучения их

эффективности в составе комплексной экспериментальной терапии ОПЛ и ОРДС вирусной этиологии.

Диссертационная работа выполнена в рамках Государственного задания №056-00134-16-03 «Роль клеточных сигнальных путей в патогенезе полиорганной недостаточности на фоне тяжелой острой респираторной инфекции».

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Результаты диссертационного исследования Александрова А.Г. достаточно полно представлены в научной печати. По теме диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Результаты и основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практической конференции-биеннале «Грипп: вирусология, эпидемиология, профилактика и лечение» (Санкт-Петербург, 2016); Первой Всероссийской научной конференции «Токсикология и радиобиология XXI века» (Санкт-Петербург, 2017); международной конференции «Trends in influenza research 2017» (Санкт-Петербург, 2017); 18-ом Всероссийском конгрессе (Всероссийская научно-практической конференция с международным участием) «Скорая медицинская помощь-2019», посвященная 120-летию скорой медицинской помощи в России (Санкт-Петербург, 2019); VI Международной конференции молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов – 2019 (Новосибирск, 2019), Пятнадцатая евразийская научная конференция Донозоология-2020 (Санкт-Петербург, 2020).

Структура и содержание работы

Диссертация изложена на 167 страницах машинописного текста, включает 21 таблицу и 52 рисунка. Работа оформлена в традиционном стиле и состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов собственных, заключения, выводов и

списка литературы. Список литературы включает 334 источников, из них 99 отечественных авторов, 235 - зарубежных.

Во введении представлены обобщенные данные отечественной и зарубежной литературы, обсуждается роль конечных продуктов гликирования в патогенезе острого повреждения легких, лечение и поиск новых средств патогенетической терапии.

В главе 2 представлены материалы и методы, определены экспериментальные животные, имеется протокол этического комитета ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ, штаммы вируса гриппа, объем исследований и направления применения вирусологических, фармакологических, физиологических, иммунологических, биохимическими и морфологических методов исследования.

В главе 3 дается характеристика влияния модуляторов рКПГ на течение ОПЛ, вызванного вирусом гриппа A/California/07/2009MA (H1N1)pdm09. Кроме того, дается оценка влияния модуляторов КПГ на течение ОПЛ, оценка влияния блокатора КПГ аминогуанидина бикарбоната на течение ОПЛ, а также влияния сахарного диабета на ОПЛ.

Завершают работу **заключение, выводы, список литературы.**

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат полностью соответствует основным положениям диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Результаты диссертационных исследований могут быть востребованы в научно-исследовательских учреждениях Российской Федерации, различной ведомственной принадлежности, работающих с вирус-содержащим материалом.

Замечания по работе

Диссертация производит достойное впечатление, тем не менее, имеется ряд упущений в работе:

- соотношение числа умерших в лечебном учреждении от конкретной нозологической формы заболевания к числу заболевших этой же нозологической формой определяется статистическим показателем - летальность, а не смертность;

- вместо реакции Амадори лучше написать перегруппировка Амадори;

- цитируемые рисунки и таблицы могли бы иметь порядковый номер, что значительно облегчило бы знакомство с работой.

Наличие стилистических, пунктуационных ошибок, а также перечисленные замечания не умаляют значимости диссертации для науки и практики. Принципиальных претензий к рассматриваемой работе нет.

В ходе изучения рукописи к автору возник ряд вопросов.

1. Насколько полно изучалась вирусная нагрузка у мышей в динамике экспериментальной работы?
2. Для оценки содержания провоспалительных цитокинов в легких применялся метод иммуноферментного анализа. Какие диагностикумы, тесты использовались в качестве конфирматорного теста?
3. Аминогуанидина бикарбонат предлагаемый в работе ограничивает уровень накопления конечных продуктов гликирования, однако у него имеется ряд побочных действий, таких как, расстройство кровотока, дистрофия в паренхиматозных органах и др. Как это соотносится с предлагаемым?

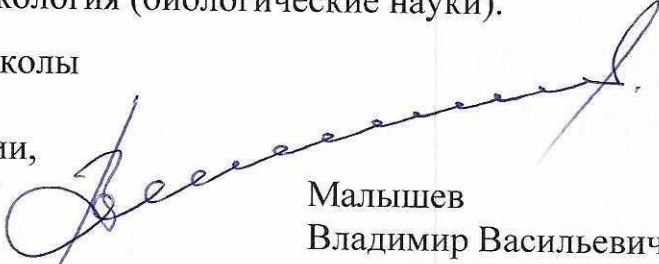
Заключение

Диссертация Александрова Андрея Георгиевича на тему: «Влияние конечных продуктов гликирования на течение ОПЛ, вызванного вирусом гриппа А(H1N1)pdm09, представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.10 – вирусология, 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология, является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача,

связанная с поиском новых средств фармакологической коррекции вирус-ассоциированного острого повреждения легких.

По своей актуальности, новизне и практической значимости результатов, объему выполненных исследований диссертационная работа Александрова Андрея Геннадьевича полностью отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 751 от 26.05.2020, № 426 от 20.03.2021, № 1539 от 11.09.2021 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Александров Андрей Геннадьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.10 – вирусология, 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Заслуженный работник высшей школы
Российской Федерации
профессор кафедры микробиологии,
доктор медицинских наук, доцент


Малышев
Владимир Васильевич

ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия
имени С.М.Кирова
Министерства обороны Российской Федерации
Почтовый адрес: 194044, г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, 6Ж; тел.8 (812) 291-56-47;
e-mail: vmeda-nio@mil.ru

«19» 04 2022 г.

Подпись профессора кафедры микробиологии
Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова
доктора медицинских наук, доцента
Малышева Владимира Васильевича
«Заверяю»

«19» 04 2022 г.



Малышев
Владимир Васильевич
ОТДЕЛА КАДРОВ
ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ
АКАДЕМИИ
ИМЕНИ
С.М.КИРОВА
П. Миличенко