

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Леновой Ирины Анатольевны на диссертационную работу Юмашева Кирилла Валерьевича «Противовирусные свойства дендримерного пептида КК-45, несущего Ø-сайт F-белка, и его влияние на иммунопатогенез респираторно-синцитиальной вирусной инфекции» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология»

### Актуальность темы диссертации

Инфекция, вызванная респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ), является одной из основных причин госпитализации и смерти младенцев в возрасте до одного года во всем мире, уступая по этому показателю лишь малярии. Не менее актуальна эта проблема у лиц пожилого возраста и пациентов с нарушениями иммунитета, у которых ситуацию усугубляют обострения уже имеющихся хронических заболеваний дыхательных путей и отдаленные хронические последствия перенесенной РСВ-инфекции. Несмотря на глобальное влияние этого вируса на здоровье людей, существует относительно мало средств для профилактики или лечения РСВ-инфекции. Вакцины против респираторно-синцитиального вируса, одобренные в США и Европе, продаваемые под торговыми марками «Арексви» (Arexvy) и «Абрисво» (Abrysvo), назначаются беременным на сроке от 24 до 36 недель для защиты ребёнка и лицам старше 60 лет, снижают риск тяжёлого заболевания примерно на 50-85 %. Также существует одна мРНК-вакцина – mRESVIA (Moderna). В России к настоящему времени ни одна из вакцин для профилактики РСВ не зарегистрирована. Парадоксально, несмотря на то что накоплен огромный объем постоянно уточняемых данных о репликации РСВ, механизмах развития патологии и путях передачи вируса в популяции проводятся многочисленные клинические исследования, до сих пор существует лишь

ограниченное число терапевтических препаратов, применение которых ограничено рядом обстоятельств. В связи с вышесказанным диссертационная работа Юмашева К.В., посвященная разработке нового подхода к профилактике и терапии респираторно-синцитиальной вирусной инфекции с использованием дендримерного пептида КК-45, содержащего О-сайт F-белка, не вызывает сомнений.

#### **Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности**

Тема диссертации полностью соответствует паспорту научной специальности «3.2.7. Иммунология» (Направления исследований: № 2, 3, 7).

#### **Основные результаты диссертационной работы**

В ходе диссертационного исследования была создана и охарактеризована экспериментальная модель РСВ-инфекции на лабораторных мышах линии BALB/c, воспроизводящая ключевые иммунопатологические характеристики заболевания у человека. Показано, что инфицирование мышей очищенным и концентрированным вирусом приводит к развитию воспалительного процесса в дыхательных путях, сопровождающегося инфильтрацией лёгочной ткани лимфоцитами и макрофагами, гиперплазией муцин-продуцирующих бокаловидных клеток и развитием бронхиальной гиперреактивности. Разработанная модель представляет ценность как для изучения механизмов патогенеза РСВ-инфекции, так и для оценки эффективности потенциальных противовирусных и противовоспалительных препаратов.

В экспериментах *in vivo* отмечено уменьшение выраженности воспалительного процесса, что проявляется снижением количества провоспалительных клеток в бронхоальвеолярном лаваже, уменьшением площади перибронхиальных инфильтратов и доли муцин-продуцирующих бокаловидных клеток в эпителии дыхательных путей. Кроме того,

применение КК-45 сопровождалось снижением экспрессии генов провоспалительных цитокинов (Ifng, Tnfa, Il6 и др.), что указывает на его способность модулировать иммунопатогенез инфекции.

Оценка безопасности показала, что КК-45 в дозе до 100 мкг не вызывал снижения массы тела, воспалительных изменений дыхательных путей и отклонений показателей крови.

Показано, что противовирусное действие КК-45 реализуется через несколько механизмов: пептид способен непосредственно взаимодействовать с вирусными частицами, снижая их инфекционность, а также ингибирует связывание вируса с клетками-мишенями. Одним из ключевых механизмов является нарушение взаимодействия вируса с клеточным рецептором нуклеолином, что указывает на подавление ранних стадий адсорбции и проникновения вируса в клетку.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что дендримерный пептид КК-45 является перспективным кандидатом для разработки лекарственного средства с противовирусной и противовоспалительной активностью в отношении РСВ-инфекции. Совокупность выявленных эффектов обосновывает необходимость дальнейших доклинических исследований КК-45 как потенциального средства профилактики и терапии данной инфекции.

### **Достоверность полученных результатов**

Достоверность результатов определяется обоснованным выбором экспериментальной модели, использованием современных методов молекулярной, вирусологической, морфологической и иммунологической оценки, а также применением адекватных статистических методов. Полученные данные представлены последовательно и согласуются между собой. Установлено, что результаты диссертационной работы достоверны.

### **Научная новизна диссертационной работы**

В диссертационной работе получен комплекс новых научных данных, существенно дополняющих современные представления о механизмах противовирусной защиты и иммунопатогенезе респираторно-синцитиальной вирусной инфекции.

Впервые проведено комплексное исследование влияния катионного дендримерного пептида КК-45, содержащего последовательность антигенного О-сайта F-белка РСВ, на иммунопатогенез РСВ-инфекции в экспериментальной модели на мышах. Показано, что интраназальное введение КК-45 приводит к дозозависимому снижению вирусной нагрузки в верхних и нижних дыхательных путях более чем в 10 раз и одновременно уменьшает выраженность вирус-индуцированного воспаления респираторного тракта.

Полученные данные свидетельствуют о том, что дендримерные пептиды, сконструированные на базе консервативных фрагментов вирусных белков, способны одновременно подавлять инфекционность вируса и связанное с ней патологическое воспаление, что закладывает основу для разработки новых противовирусных препаратов.

### **Теоретическая значимость диссертационной работы**

Теоретическая значимость диссертационной работы определяется расширением представлений о механизмах действия катионных дендримерных пептидов при РСВ-инфекции и о возможностях направленной коррекции вирус-индуцированного воспаления дыхательных путей.

Существенное значение для развития теоретической вирусологии и иммунологии имеют результаты, раскрывающие двойной механизм действия КК-45. Показано, что пептид способен непосредственно взаимодействовать с вирионами РСВ и одновременно препятствовать взаимодействию вируса с нуклеолином — клеточным фактором, участвующим в проникновении РСВ в

клетки. Полученные данные уточняют представления о возможностях воздействия на ранние этапы инфекционного цикла РСВ посредством пептидных молекул.

Теоретический интерес представляют данные о влиянии КК-45 на иммунопатогенез РСВ-инфекции. Показано, что снижение вирусной нагрузки сопровождается: уменьшением клеточной инфильтрации дыхательных путей, содержания клеток, макрофагов и лимфоцитов в бронхоальвеолярном лаваже и площади перибронхиальных инфильтратов. При этом отсутствие изменений экспрессии генов интерферонов I типа указывает на избирательность противовоспалительного действия пептида без подавления данного компонента врождённого иммунитета.

Таким образом, проведённое исследование углубляет понимание ранних этапов взаимодействия РСВ с клетками и механизмов вирус-индуцированного воспаления, подчёркивая значение F-белка, его Ø-сайта и нуклеолина.

### **Практическая значимость диссертационной работы**

Практическая значимость диссертационной работы К.В. Юмашева определяется возможностью использования полученных результатов при разработке новых средств терапии РСВ-инфекции, основанных на применении синтетических дендримерных пептидов, сочетающих прямое противовирусное действие с коррекцией патологического воспалительного ответа.

Разработан и физико-химически охарактеризован оригинальный синтетический дендримерный пептид КК-45, содержащий антигенный Ø-сайт F-белка РСВ. В экспериментальных условиях пептид обеспечивал дозозависимое снижение вирусной нагрузки в верхних и нижних дыхательных путях более чем в 10 раз и уменьшение выраженности воспалительных изменений в лёгких. Полученные данные позволяют

рассматривать КК-45 как перспективный кандидат для дальнейших доклинических исследований в качестве средства интраназальной терапии РСВ-инфекции.

Практическую ценность имеют установленные механизмы действия КК-45, включающие прямое воздействие на вирусные частицы и конкурентное ингибирование связывания РСВ с нуклеолином. Такая двойная направленность действия может быть использована при дальнейшем совершенствовании конструкции пептида и разработке новых соединений, воздействующих одновременно на вирион и ключевые этапы его проникновения в клетку.

Важное практическое значение имеют результаты комплексной оценки безопасности КК-45. Установлено отсутствие признаков токсического воздействия при 14-дневном интраназальном введении в дозах до 25 мкг, а также отсутствие иммуногенных и аллергизирующих свойств в дозах до 100 мкг.

Представленные результаты создают необходимую базу для продолжения исследований данного соединения. На пептид КК-45 получен патент Российской Федерации № 2810986 С2. Кроме того, разработанная модель РСВ-инфекции *in vivo* была внедрена в практику лаборатории «Противовирусного иммунитета» № 75. Таким образом, результаты работы перспективны для совершенствования экспериментальных моделей заболевания и создания новых пептидных конструкций.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 139 страницах текста и имеет традиционную структуру, включающую «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы» и «Приложение». Работа иллюстрирована 21 рисунком и 6 таблицами.

Библиографический список включает 199 источников, из которых 14 отечественных и 185 зарубежных.

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту. Обзор литературы выполнен на высоком уровне и содержит систематический анализ современных данных по теме исследования. Раздел «Материалы и методы» подробно описывает используемые экспериментальные подходы. Результаты исследования изложены последовательно, логично и сопровождаются необходимыми иллюстрациями. Обсуждение отражает глубокий анализ полученных данных и их сопоставление с литературными источниками.

Выводы полностью обоснованы результатами исследования и четко сформулированы. Рекомендации логично вытекают из содержания диссертации, аргументированы и имеют научно-практическую значимость.

Материалы диссертации апробированы на научных конференциях. Основные результаты диссертации опубликованы в 9 научных работах, включая 6 статей в рецензируемых периодических научных изданиях, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата, 2 публикации в материалах конгрессов и конференций, а также 1 патент.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

### **Замечания и вопросы**

В рецензируемой диссертационной работе не выявлены существенные недостатки. В качестве отдельных замечаний по оформлению можно отметить следующие:

1. В разделе Обсуждение большая часть отведена информации по анализу структур пептидов, имеющих различные молекулярные мишени в отношении РСВ (стр. 84-94), из которых только один или два класса

относятся к изучаемым пептидам. На мой взгляд этот раздел уместнее был бы в разделе Литературный обзор.

2. Изучая пептиды в клеточной культуре, вы исследовали их вирулицидную активность, их способность связываться рецепторами с РСВ и нуклеолином, способность ингибировать проникновение в клетки. Изучали ли противовирусную активность пептидов в полном классическом тесте по ингибированию цитопатического эффекта вируса по окрашиванию жизнеспособности клеток с использованием МТТ ( протокол компании Abbott), или в тесте Cell -ELISA по снижению репродукции вируса (Ленева И.А., Федякина И.Т., Соколова М.В., Гуськова Т.А. Использование иммуноферментного анализа для изучения действия противовирусного препарата на репродукцию респираторно-синцитиального вируса // Вопросы вирусологии, 2002, № 2. С. 42-45) ? Если да, то какие результаты были получены и их интерпретация.

3. Несмотря на то, что работа тщательно проверена в ней все-таки встречаются опечатки (стр. 25, несколько слов соединены в одно)

К представленной работе имеются следующие дискуссионные вопросы.

1. Известно, что одним из решающих ограничений использования терапевтического средства паливизумаб является его высокая стоимость. Как бы Вы могли оценить ориентировочную стоимость производства дендримерных пептидов по сравнению с этим препаратом. Есть ли преимущества?

2. В литературном обзоре упоминается, что дендритные пептиды за счет своей структуры могут обладать эффективностью и при пероральном применении. В Ваших экспериментах изучаемые пептиды были эффективны при интраназальном использовании. Пробовали Вы использовать пероральный путь введения, поскольку именно такой прием всегда наиболее

желаем при инфекциях. Если изучали пероральный путь введения, то какой результат был получен.

Возникшие вопросы и замечания ни в коей мере не снижают значимость и ценность работы, а скорее могут служить основой для новых идей и дальнейших исследований.

### **Заключение**

Диссертационная работа Юмашева Кирилла Валерьевича «Противовирусные свойства дендримерного пептида КК-45, несущего Ø-сайт F-белка, и его влияние на иммунопатогенез респираторно-синцитиальной вирусной инфекции» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» (биологические науки) является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для иммунологии: получены новые данные о влиянии КК-45 на иммунопатогенез РСВ-инфекции, выражающемся в снижении вирусной нагрузки в верхних и нижних дыхательных путях более чем в 10 раз и уменьшении воспалительных изменений респираторного тракта при сохранении экспрессии генов интерферонов I типа; создана и внедрена в лабораторную практику экспериментальная модель РСВ-инфекции на мышах, воспроизводящая ключевые проявления заболевания; показано преимущество дендримерного пептида КК-45 по противовирусной активности над линейным аналогом КК-44 и малым дендримерным пептидом D-12; получены новые данные о противовирусном действии оригинального катионного дендримерного пептида КК-45, несущего последовательность антигенного Ø-сайта F-белка РСВ; выдвинута гипотеза о двойном механизме противовирусного действия КК-45 — прямом взаимодействии с вирионами и конкурентном блокировании связывания вируса с нуклеолином на

поверхности клеток-мишеней; при интраназальном введении в исследованных дозах подтверждён благоприятный профиль безопасности пептида — отсутствие токсического, иммуногенного и аллергизирующего эффектов; полученные результаты обосновывают перспективность КК-45 как кандидата для дальнейшей доклинической разработки средств интраназальной терапии РСВ-инфекции.

Диссертационная работа Юмашева К.В. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» (биологические науки).

Официальный оппонент:

руководитель лаборатории экспериментальной вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»  
Российской академии наук  
доктор биологических наук

Ленёва Ирина Анатольевна

  
25.09.2026

Подпись д.б.н. И.А. Леновой заверяю:

Ученый секретарь

А.В.Васильева

Контактная информация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии наук, Министерства науки и высшего

образования. Адрес: Россия 105064, Москва, Малый Казенный переулок,  
д.5А. Тел.: +7 (495) 917-49-00, e-mail: mech.inst@mail.ru, сайт:  
<https://instmech.ru>