

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Антоновой Наталии Петровны на тему «Получение, стандартизация и фармакологическое изучение субстанции эндолизина LysECD7», представленный к защите в диссертационный совет ДСУ 208.001.11 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Мультирезистентные штаммы патогенных бактерий представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современного здравоохранения. Такие штаммы устойчивы к действию большинства антибиотиков первого ряда, а некоторые из них – и к антибиотикам резерва, что значительно затрудняет терапию вызванных ими инфекций. В связи с этим остро встает вопрос о разработке и внедрении в клиническую практику новых антибактериальных средств, отличающихся по механизму действия от используемых в настоящее время антибиотиков и не подверженных таким образом перекрестной устойчивости. Одним из наиболее перспективных и активно исследуемых классов подобных соединений являются эндолизины – ферменты бактериофагов, расщепляющие пептидогликан клеточной стенки бактерий, что приводит к осмотическому шоку и лизису бактериальной клетки. Хотя некоторые эндолизины уже находятся на стадии клинических исследований в разных странах, все они характеризуются специфичностью в отношении грамположительных патогенов. Разработка эндолизинов, активных в отношении грамотрицательных бактерий, многие из которых являются опасными и крайне проблемными с точки зрения терапии патогенами человека, в настоящее время находится на более ранней стадии. В связи с этим поставленная в данной работе задача получения, стандартизации и изучения эндолизина LysECD7, активного в отношении именно грамотрицательных патогенов, является чрезвычайно актуальной.

В ходе выполнения диссертационной работы была разработана технология микробиологического синтеза и последующей хроматографической очистки эндолизина LysECD7, предложены методы контроля качества субстанции эндолизина, исследован спектр антибактериальной активности субстанции эндолизина, изучено ее действие на биопленки некоторых грамотрицательных патогенов, получены данные, позволяющие делать предположения о механизме действия эндолизина на бактериальные клетки. Наиболее же важным, на мой взгляд, результатом диссертационной работы является исследование эффективности субстанции эндолизина LysECD7 в трех моделях бактериальной инфекции *in vivo*: модели раневой инфекции *Klebsiella pneumoniae*, модели ожоговой инфекции *Pseudomonas aeruginosa* и модели имплант-ассоциированной инфекции *K. pneumoniae*. Во всех трех моделях эндолизин LysECD7 показал заметный антибактериальный эффект, что делает его перспективным для дальнейшего изучения.

Полученные результаты обладают высокой практической и теоретической значимостью. Разработанная технология получения оригинальной субстанции эндолизина LysECD7 и методики ее стандартизации представляют собой существенный задел в фармацевтической разработке субстанций эндолизинов и лекарственных средств на их основе и нашли практическое применение в деятельности ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Ключевые результаты диссертационного исследования были представлены на 5 отечественных и международных конференциях и опубликованы в 14 научных работах, в том числе 4 статьях в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus/Web of Science, 1 статье в издании, рекомендованном ВАК РФ, 4 тезисах в сборниках и 5 патентах РФ.

По материалам автореферата можно высказать следующие замечания:

1) Автором показано, что эндолизин способствует повышению проницаемости мембран бактериальных клеток для бромистого этидия (либо находящихся внутри клетки молекул ДНК и РНК), а также косвенно продемонстрирована способность эндолизина взаимодействовать с пептидогликаном. Однако, эти данные не позволяют утверждать, что гибель бактериальной клетки наступает вследствие реализации двух этих механизмов действия, а не только одного из них (или даже какого-то третьего). Например, чтобы показать, что гидролиз пептидогликана вносит вклад в бактерицидную активность, необходимо сравнить его действие с таковым для мутантного каталитически неактивного варианта эндолизина.

2) Хотя данные по эффективности эндолизина LysECD7 в моделях инфекции *in vivo* представляют несомненную ценность, в двух из трех экспериментах (моделях раневой и ожоговой инфекций) отсутствует препарат сравнения, что не позволяет оценить относительную эффективность субстанции эндолизина. С одной стороны, ожидается, что препараты эндолизинов будут применяться в случаях инфекций, вызванных штаммами бактерий, резистентными к стандартной антибиотикотерапии. В этом случае антибиотики в качестве препарата сравнения будут заведомо неэффективны, и потому включение такой группы в схему эксперимента не даст дополнительной информации. С другой стороны, в обоих случаях речь идет о моделях, связанных с местным, а не системным применением эндолизина, и в качестве препарата сравнения мог быть использован какой-либо из применяющихся в таких случаях местных антисептиков.

Обозначенные выше замечания не являются критическими и не затрудняют оценку проделанной работы. Исследование выполнено на высоком уровне. Ход рассуждений автора последователен и соответствует поставленным целям и задачам. Выводы диссертационной работы четко сформулированы и отражают наиболее значимые результаты работы. Представленная работа является самостоятельным и завершенным исследованием, характеризующимся новизной и имеющим значимое практическое и теоретическое значение. Научные положения и выводы, сформулированные в работе, обоснованы, достоверность приведенных данных не вызывает сомнений.

Представленный автореферат позволяет сделать вывод о том, что диссертация Антоновой Наталии Петровны на тему «Получение, стандартизация и фармакологическое

изучение субстанции эндолизина LysECD7» является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим решение важной научной задачи в области разработки современных принципиально новых антибактериальных препаратов для лечения инфекций, вызванных бактериями, обладающими устойчивостью к стандартной антибиотикотерапии, и соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Антонова Н.П., заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заведующий лабораторией биологически активных наноструктур

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

доктор биологических наук

03.01.06 – Биотехнология

(в том числе бионанотехнологии)

Лунин Владимир Глебович

«10» сентября 2021 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18.

Тел.: 8(495)9545283, email: lunin1955@gmail.com.

10 сентября 2021 г.

Подпись Лунина В.Г. удостоверяю.

Заместитель начальника отдела кадров



О.В. Ерошина