

ОТЗЫВ

на диссертацию Аль Фарруха Мохаммада «Влияние снижения показателей статуса меди на течение гриппозной инфекции у мышей», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям «Вирусология – 1.5.10» и «Биохимия – 1.5.4»

Диссертационная работа, представленная Мохаммадом Аль Фаррухом, относится к фундаментальной медико-биологической проблеме, рассматривающей подходы для ослабления тяжести течения гриппозной инфекции. Регулярно возникающие сезонные эпидемии гриппа охватывают практически все мировое население, ежегодно унося миллионы жизней и причиняя значительный ущерб мировой экономике. Основные способы борьбы с вирусной инфекцией: вакцинация и лекарственные препараты, нарушающие репродукцию вируса, требуют постоянно растущих затрат, так как вирус гриппа обладает высоким уровнем генетической изменчивости, из-за которой новые препараты и вакцины вскоре становятся не эффективными. Соискателем изучены молекулярные механизмы вовлечения метаболизма меди в патогенез гриппозной инфекции, на основе чего разработан и изучен альтернативный подход к ослаблению тяжести течения инфекции путем влияния на метаболизм меди хозяина посредством введения наночастиц серебра. Таким образом, диссертационное исследование М. Аль Фарруха является безусловно *актуальным* и характеризуется значительной степенью научной и практической *новизны*.

В частности, в ходе работы показано, что внутрибрюшинные инъекции наночастиц серебра (НЧС) вызывают снижение уровня меди вследствие вмешательства ионов серебра, Ag(I) , диссоциирующих с поверхности НЧ, в метаболизм меди. Так как валентные оболочки Ag(I) и Cu(I) идентичны, ионы Ag(I) связываются транспортными белками Cu(I) , поступают в гепатоциты, достигают люмена аппарата Гольджи и включаются в активные центры созревающего здесь церулоплазмينا (ЦП, основного

медьсодержащего белка сыворотки крови). Это приводит к снижению показателей статуса меди (концентрация меди и содержание холо-ЦП) и блокирует доставку меди к клеткам различных органов. Полученные результаты безусловно соответствуют паспорту научной специальности 1.5.4. «Биохимия» (отрасль науки – биологические).

Стоит отметить, что в исследовании использованы НЧС, произведенные непосредственно с участием соискателя. В работе детально охарактеризованы их физико-химические свойства. Приведенные данные показывают, что использованы сферические кристаллические НЧС определенного размера, препарат не содержит примесей других элементов и ионное серебро. Данное обстоятельство имеет принципиальное значение, свидетельствуя о высоком качестве работы, поскольку коммерческие частицы зачастую не отвечают данным требованиям и их использование может вносить значительные погрешности в результаты исследования.

Соискателем сформулировано предположение о том, что при низком уровне меди в организме тяжесть течения гриппозной инфекции ослабляется, так как репродукция вируса гриппа нуждается в метаболической меди и/или развитие гриппозной инфекции связано с метаболизмом меди. Для проверки данного предположения автором последовательно проведен ряд исследований. Первый этап исследования посвящен поиску модельного штамма вируса гриппа А (ВГА) у мышей, так как используемый штамм PR8 давно циркулирует в популяции и, вероятно, уже антигенно устарел. На основании развернутого исследования с помощью классических вирусологических методов, в качестве наиболее адекватной модели соискателем избран штамм A/South Africa/3626/2013 (SA). М. Аль Фаррух также установил, что вирус штамма SA несет замены в РНК-полимеразном комплексе, которые, по данным молекулярной динамики, могут быть ответственны за его высокую патогенность. Данная часть диссертации

представляется отдельным исследованием, безусловно соответствующим специальности «1.5.10 – Вирусология».

В дальнейшем диссертант убедительно демонстрирует, что введение НЧС в концентрации, не вызывающей признаков токсичности, по разработанной соискателем схеме, повышает выживаемость мышей, зараженных смертельной дозой ВГА. В то же время, отмечается, что повышение выживаемости не связано с подавлением репродукции ВГА. Для обоснования данного обстоятельства соискателем выдвигается три предположения: (1) НЧС влияют на экспрессию генов, ответственных за гомеостаз меди в клетках легких мышей, зараженных ВГА; (2) серебро (или НЧС), аккумулированное в легких подавляет рост патогенной микробиоты и способствует ослаблению вирусной инфекции; (3) низкий уровень меди в организме, формирующийся вследствие воздействия НЧС, снижает выраженность иммунного ответа.

Последовательно проверяя эти предположения, автор изучает влияние НЧС на экспрессию генов метаболической системы меди в клетках легких. Следует отметить, что анализ экспрессии генов, кодирующих участников метаболической системы меди в легких, выполнен впервые. В экспериментах пульс-чейз типа изучена фармакокинетика серебра НЧ. Показано, что в легкие серебро доставляется в составе комплекса Ag-ЦП. В результате получены данные об особенностях экспрессии генов системы, обеспечивающей гомеостаз меди в легких интактных животных, по сравнению с гепатоцитами. Также установлено, что в отличие от печени, при воздействии НЧС в легких отмечается повышение активности генов метаболизма меди. Автор трактует это, как развивающийся дефицит меди в клетках легких. Заражение ВГА вызывает снижение экспрессии СОД1 и повышение активности заякоренных в мембране двух потенциальных доноров меди: мембранного ЦП и прионного белка. При этом воздействие НЧС восстанавливает уровни экспрессии этих генов.

В ходе анализа микробиоты легких автором убедительно продемонстрировано отсутствие изменений ни в количественном содержании микрофлоры, ни в ее таксономических характеристиках, при воздействии НЧС.

Для проверки третьего предположения соискатель сравнивает способность холо-ЦП и Ag-ЦП вызывать апоптоз нейтрофилов. Автор получил электрофоретически чистые препараты ЦП из сыворотки интактных мышей и мышей, подверженных введению НЧС, обрабатывает ими лейкоцитарную фракцию, изолированную из периферической крови интактных мышей, затем выделяет из нее препараты ДНК и анализирует их методом электрофореза. Проведенный анализ позволяет М. Аль Фарруху заключить, что Ag-ЦП не вызывает апоптоз нейтрофилов, что может препятствовать гиперпродукции провоспалительных цитокинов, что способствует повышению выживаемости мышей. В завершении работы проведены исследования, направленные на оценку влияния более низких концентраций НЧС на выживаемость мышей, инфицированных ВГА, убедительно демонстрирующие, что эффект НЧС носит дозо-зависимый характер, а показатель выживаемости мышей обратно взаимосвязан со снижением показателей статуса меди.

При выполнении работы диссертант использует внушительный набор современных методов классической вирусологии, микробиологии, биохимии, биофизики, молекулярной биологии и биоинформатики. Все методы использованы адекватно, результаты получены на репрезентативных выборках, обработаны соответствующими статистическими методами.

Диссертация М. Аль Фарруха представлена на 142 страницах и содержит традиционные разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы (250 источников), а также список сокращений. Также имеется

приложение, включающее таблицу со списком дополнительных вирусов ВГА (H1N1)pdm09 и филогенетические деревья остальных 9 белков штаммов ВГА H1N1pdm09. Объем теоретической и экспериментальной частей рукописи соответствует пропорциям, рекомендованным ВАК РФ.

Введение диссертационной работы включает в себя все необходимые элементы. Автором последовательно раскрыты актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, представлены положения, выносимые на защиту, а также степень достоверности и информацию об апробации результатов. Раздел содержит сведения о личном вкладе автора в исследование. Также отмечается, что диссертационная работа выполнена при частичной поддержке Российского научного фонда и научно-исследовательских работ в рамках государственных заданий, что подчеркивает высокую значимость научную и практическую значимость работы.

Обзор литературы содержит исчерпывающие на сегодняшний день сведения о метаболизме меди и ее биологической роли и реализации программы репродукции ВГА. Соискатель обосновывает связь между метаболизмом меди и репликацией ВГА на основе анализа литературы, начиная с середины 1980-х до текущего периода. В то же время, подавляющее большинство источников опубликованы в течение последних 5-7 лет. Автор также обсуждает данные об использовании НЧС как агента, обладающего вирулицидной активностью.

Глава «Материалы и методы исследования» содержит исчерпывающие сведения о дизайне исследования, подробно описываются использованные методы. Детальное описание методологии исследования может указывать на

высокий методический уровень проведения работы, а также свидетельствует о воспроизводимости полученных данных.

Результаты исследования изложены ясно, их описание структурировано в соответствии с задачами исследования. Полученные автором данные богато проиллюстрированы наглядными диаграммами и графиками, что формирует целостное восприятие диссертационной работы.

Содержание работы полно отражено в публикациях в тематических высокорейтинговых журналах, входящих как в ведущие международные базы данных, так и в Единый государственный перечень научных изданий «Белый список», и соответствующих требованиям ВАК РФ. Помимо этого, результаты исследования обсуждены на всероссийских и международных конференциях и симпозиумах различного уровня. Диссертация написана грамотным профессиональным языком, хорошо выверена, список литературы соответствует цитированию, он в основном содержит публикации за последние 7 лет. Автор цитирует отечественные статьи по их упоминанию в международных базах данных.

Выводы четкие, полностью поддержаны полученными результатами, логически вытекают из результатов исследования. Не лишним будет отметить, что диссертационное исследование М. Аль Фарруха вносит существенный вклад в разработку методов лечения вирусных заболеваний на примере вируса гриппа. С одной стороны, формируется новый подход в использовании НЧС для лечения гриппозной инфекции, тогда как с другой, убедительно демонстрируются молекулярные механизмы патогенеза и саногенеза, что подтверждает высказанные предположения.

Использование современных биохимических и вирусологических методов, а также характер полученных данных и сделанные на их основе заключения обосновывают необходимость защиты по двум специальностям: 1.5.10 – Вирусология и 1.5.4 – Биохимия.

Есть ряд замечаний по оформлению рукописи диссертации, которые не уменьшают научной ценности работы. В частности, было бы более информативно представлять статистическую значимость различий в виде непосредственных величин p , а не в виде интервалов, как, например, $p < 0,05$. В то же время, выбранный автором подход также является общепринятым. Также было бы уместным предоставить иллюстрации в обзоре литературы с переводом основных терминов на русский язык, как это сделано в ряде рисунков.

В ходе обсуждения результатов диссертационного исследования хотелось бы узнать позицию автора по следующим вопросам:

1. Какова, по Вашему мнению, роль прионного белка в облегчении течения гриппозной инфекции, и как согласуются Ваши данные с результатами цитируемых Вами японских авторов о защитной роли приона от вирусной инфекции?
2. Почему Вы не получали чистую фракцию нейтрофилов, и как может влиять присутствие лейкоцитов на полученные Вами результаты?
3. Как Вы думаете, почему НЧС влияют не одинаково на экспрессию генов метаболизма меди в печени и легких?
4. Можно ли на основе проведенного Вами исследования дать какие-то рекомендации о возможности применения НЧС при лечении гриппа?

Заключение

Диссертация Аль Фарруха Мохаммада на тему «Влияние снижения показателей статуса меди на течение гриппозной инфекции у мышей», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.10 – Вирусология, 1.5.4 – Биохимия, по своей актуальности, научной новизне, практической ценности полученных

результатов, методическому уровню и объему проведенных исследований полностью соответствует критериям, установленным пунктом 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 25.01.2024 г.), предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.10 – Вирусология, 1.5.4 – Биохимия.

Тиньков А.А., д.м.н.,
главный научный сотрудник
Института биоэлементологии
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»
« 06 » ноября 2025 г.

Почтовый адрес: 460018, Оренбургская область, г. Оренбург, просп. Победы,
д. 13

Электронный адрес: tinkov.a.a@gmail.com

Телефон: +7(961)-937-81-98

