

ОТЗЫВ

на диссертацию Ивановой Марины Викторовны «Взаимодействия вирусов с детонационными наноалмазными материалами и композитами на основе полианилина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Доминирующая роль вирусов в этиологии современных инфекционных заболеваний обуславливает актуальность проведения исследований по разработке как новых лекарств, так и новых способов предотвращения распространения инфекции. Появление у микробов резистентности к лекарственным препаратам и к дезинфицирующим средствам стимулирует ученых на разработку новых препаратов и средств, обладающих антивирусной активностью или создающих барьеры на пути распространения инфекций. В качестве претендентов могут рассматриваться наноразмерные материалы, которые обладают свойствами, отличными от своих макроразмерных аналогов. В связи с вышесказанным актуальность работы Ивановой М.В. не вызывает сомнения. В работе представлен широкий набор материалов (17 образцов), включающих современные углеродсодержащие соединения в виде детонационных наноалмазов и их модификации, а также полимерные полианилиновые нанокompозиты различной формы и состава (содержащие и не содержащие атомы серебра). В качестве вирусных моделей были взяты представители оболочечных вирусов (вирусы гриппа А и В) и безоболочечных вирусов (полиовирусы). Выбор этих вирусов для исследования обусловлен широтой их распространения в мире, эпидемическим и пандемическим потенциалом в случае вируса гриппа, а также способами передачи инфекции. Водный путь распространения вирусов наряду с воздушно-капельным является вторым по значимости для вирусов гриппа птиц и основным - для вируса полиомиелита. Изменчивость вируса гриппа позволяет проводить исследования с вирусами, структуры поверхностных белков которых обладают существенными отличиями.

Диссертация построена по классическому образцу: содержит несколько разделов. Во введении представлены теоретические и методологические основы исследования, сформулированы задачи исследования, показана научно-практическая значимость результатов, перечислены публикации: 4 статьи опубликованы в Российских рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 2 статьи - в зарубежных журналах, 14 тезисов докладов были представлены и опубликованы на российских и международных конференциях и конгрессах, проводившихся в разных странах мира с 2011 по 2014 гг.). На международной выставке в 2014 г. в Москве работа была отмечена медалью. По результатам исследований подана заявка на изобретение № 2013117675 от 17.04.2013 г.:

Иванова В. Т., Иванова М. В., Спицын Б. В., Трушакова С.В., Бурцева Е.И., Исакова А.А., Корженевский А. П., Денисов С.А., Олесик Ф.Н. "Сорбенты — детонационные наносодержащие материалы; способы получения иммуносорбентов на их основе и иммуносорбции". В опубликованных материалах полностью отражены полученные диссертантом результаты исследования.

Литературный обзор включает 4 главы. В первой главе приводятся данные о вирусе гриппа, истории его открытия и изучения, классификации, структуре и свойствах вирионов, включая описание основных антигенов и внутренних белков. Особое внимание уделено случаям интродукции вирусов гриппа птиц в человеческую популяцию и выделению от людей вирусов гриппа с подтипами гемагглютинина и нейроминидазы, типичными для вирусов гриппа птиц. Репликация вирусов гриппа птиц происходит респираторно и в желудочно-кишечном тракте с последующим выделением вирусов в водоемы. Таким образом, создаются условия для инфицирования других птиц и млекопитающих, возникновения природных реассортантов и в дальнейшем возможных пандемических штаммов. Во второй главе обзора литературы приводятся данные о распространении и свойствах полиовируса и меры профилактики полиомиелита. Подчеркивается важность проведения санитарно-гигиенических мероприятий, поскольку вакцинопрофилактика, несмотря на огромные успехи, не в состоянии полностью искоренить эту инфекцию. Третья глава посвящена сорбции как методу удаления примесей из разных сред. Здесь приводятся данные по использованию как классических сорбентов, так и современных, наноразмерных, для разных медицинских целей, в том числе в качестве платформ для адресной доставки лекарств и для разработки новых методов медико-диагностических исследований. В четвертой главе приводятся сведения об использовании материалов, содержащих атомы серебра в составе антибактериальных сред, о механизмах их действия и практическом применении.

Литературный обзор написан хорошо, приведенные в обзоре данные обуславливают необходимость проведения исследований, результаты которых приведены в разделе «Основное содержание работы». Этот раздел включает 5 глав собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, список цитируемой литературы, список публикаций, иллюстраций и используемых сокращений. В главе «Материалы и методы» перечислены эпидемические штаммы подтипов А(Н1N1), (Н3N2), пандемические штаммы А(Н1N1)pdm09, эпидемические штаммы вирусов гриппа В обеих эволюционных линий В/Виктория/2/87 и В/Ямагата/16/88, реассортанты вирусов гриппа птиц и человека с антигенными формулами А(Н5N1), А(Н5N2). В список, содержащий 18 штаммов, включены все основные представители вирусов гриппа, циркулировавших в РФ с 1999 по

2013 г. Другой вирусной моделью был вирус полиомиелита - вакцинный штамм Сэбина типа 1, рекомендованный для исследований вирулицидного действия дезинфицирующих средств (Носик Н.Н., Носик Д.Н., 2006.). Для выращивания вирусов были использованы куриные эмбрионы, культуры клеток линий MDCK и Vero. Эффективность сорбционной активности вирусов после контакта с сорбентами оценивали в случае вирусов гриппа по падению гемагглютинирующей активности в реакции РГА и по изменению инфекционной активности вирусов в куриных эмбрионах, для полиовируса - по изменению цитопатической активности в клетках Vero. Оценку влияния сорбентов на репродукцию вирусов гриппа проводили на клетках линии MDCK. Активность взаимодействия сорбентов с вирусоспецифическими антителами из иммунных сывороток оценивали в реакции РТГА. Эффективность сорбции фрагментов ДНК, полученных при амплификации вирусов гриппа, и белков сывороточного альбумина оценивали на основании данных электрофоретического анализа проб в 2% агарозе и в 12% ПААГ (в денатурирующих условиях), соответственно. Перечень методов, использованных диссертантом, свидетельствует о хорошей экспериментальной подготовке и является достаточным для получения представленных в диссертации результатов.

Автором получены следующие приоритетные данные: представители оболочечных вирусов (вируса гриппа типов А и В) и безоболочечных вирусов (полиовирусы) способны эффективно сорбироваться на детонационные наноалмазные материалами и их разновидности, а также полианилиновые композиты, содержащие и не содержащие атомы серебра. Сорбция не зависит от антигенной структуры вирусов гриппа. Введение атомов серебра в структуру полимерных композитов увеличивало ≥ 10 раз адсорбционную активность у аллантаисных вирусов гриппа, вирусов полиомиелита вакцинного штамма Сэбина типа 1 и фрагментов ДНК. Заслугой диссертанта является всестороннее изучение процесса сорбции, а именно, зависимости от различных факторов: температуры (в диапазоне от 4 до 36°C), времени контакта вирусов с сорбентом (от 15 мин до 2 ч), наличия в растворе белков невирусного происхождения). Автором показано, что образованные комплексы вирус-сорбент обладают инфекционной активностью. Введение таких иммунных комплексов в куриные эмбрионы или культуры клеток *in vitro* вызывало репродукцию вирусов гриппа и полиомиелита в соответствующих системах.

Нанесение на поверхность клеточного монослоя линии MDCK взвеси сорбентов (при концентрации сорбентов 0,1 мг/мл и менее) не оказывал существенного влияния на репродукцию вирусов гриппа в данной системе.

Введение иммунных сорбентов, включающих пандемический штамм вируса гриппа А(H1N1)pdm09 и детонационные наноалмазы, в организм лабораторных животных (крыс), вызвало у них индукцию специфических антител к этому вирусу.

Исследования на лабораторных животных (крысах) проводились также посредством введения внутрибрюшинно полианилиновых нанотрубок с серебром и без серебра. Введение единичной дозы 3 мг/ 1.2 мл/ животное не вызвало изменения веса у животных. Однако по сравнению с формулой крови контрольных животных после введения нанокompозитов регистрировались различные варианты изменения числа моноцитов, эозинофилов и лейкоцитов, в зависимости от вида полианилиновых композитов. В настоящее время в мире идет процесс накопления экспериментальных данных, получаемых различными методами, поскольку такого рода исследования токсических свойств наноматериалов только начали проводиться, и соответственно, критерии токсичности и методы ее оценки еще не разработаны и не утверждены.

Большинство представляемых в настоящее время работ с наноразмерными материалами выполнено на низкомолекулярных соединениях, пептидах или на стандартных биологических моделях подобно *E. coli*. Комплексный подход при изучении взаимодействия вирусов, вызывающих массовые заболевания, с наноразмерными материалами является большой заслугой автора, поскольку он позволил изучить в различных аспектах свойства комплексов вирус-нанокompозит разного состава и структуры. Данные проведенного исследования впоследствии могут вызвать большой интерес в связи с практическим применением наноматериалов в медицине и животноводстве.

В рецензируемой диссертационной работе не выявлено существенных недостатков. В качестве замечаний можно отметить некоторые огрехи, которые относятся не к сути, но к терминологии, изложению и оформлению экспериментального материала, а именно: (1) неоднократно в диссертации и Автореферате встречается формулировка «клетки культуры тканей MDCK», правильнее было бы написать «культура клеток (а не тканей) линии MDCK»; (2) после названий штаммов в тексте не всегда указана антигенная формула штамма; (3) над рисунком 22 (стр. 83 диссертации) «съехала» нумерация дорожек; не указаны молекулярные веса белковых маркеров для идентификации электрофоретической подвижности исследуемых белков (Рис. 25 стр. 93 диссертации); (4) в Резюме к Главе 5 диссертации (стр. 106) дважды (под рубриками «во-первых» и «в-третьих») повторяется один и тот же вывод про увеличение концентрации моноцитов как следствие введения в организм животного препаратов нанотрубок ПАНИ с Ag.

Соответствие содержания диссертации указанной специальности.

Диссертация Ивановой М.В. по своему содержанию полностью соответствует специальности 03.02.02 – «вирусология», а содержание автореферата в достаточной мере отражает содержание диссертации.

Заключение.

В целом можно констатировать, что представленная Ивановой Мариной Викторовной диссертационная работа на тему «Взаимодействия вирусов с детонационными наноалмазными материалами и композитами на основе полианилина», является законченной научно-квалификационной работой. В диссертации представлены обоснованные научные выводы, вытекающие из результатов проведенных разноплановых исследований.

По актуальности, решению поставленных задач, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Ивановой М.В. полностью отвечает требованиям п. 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Соискатель Иванова Марина Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Ведущий научный сотрудник
отдела хроматографического анализа
НИИ физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского
ФГБОУ высшего профессионального
образования «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ),
д.б.н.

Л.В. Кордюкова

Подпись д.б.н. Л.В. Кордюковой заверяю
Ученый секретарь
НИИ физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского МГУ,
д.ф.-м.н.



З.Г. Фетисова

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на научном семинаре отдела хроматографического анализа НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ (протокол № 4 от 15 сентября 2014 г.).