

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

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

Актуальность темы

Патогенные для человека инфекционные агенты могут широко циркулировать в водных резервуарах различного происхождения, попадая в питьевую воду и вызывая инфицирование людей. При этом наиболее опасным является загрязнение воды вирусами, которые более устойчивы по сравнению с другими микроорганизмами к обеззараживающим реагентам, применяемым на сооружениях водоподготовки. Проведенные в 1997 г. исследования на речных водозаборах г. Минска и г. Гомеля показали, что используемые в настоящее время технологии обеззараживания воды не являются эффективными в отношении удаления вирусного загрязнения. Так, уровень вирусопозитивных проб речной воды в г. Минске составил в феврале – ноябре 11,8%. При этом нестандартных проб по бактериальным показателям не было обнаружено. Это указывает на тот факт, что осуществляемая очистка воды эффективна только в отношении бактериального загрязнения и не может обеспечить эпидемиологическую безопасность в отношении вирусных агентов. Водный путь является одним из основных для возбудителей таких заболеваний, как гепатит А, Е, вирус гриппа птиц, ротавирусные и энтеровирусные инфекции (ЕСНО-30, -2, 12, 16, Коксаки В2, Коксаки 23). Таким образом очистка воды от вирусов и бактерий является одним из ключевых вопросов в настоящее время.

Следует отметить, что вопрос очистки воды от микропатогенов решен только частично, поскольку активное применение хлорсодержащих соединений вызывает появление резистентных штаммов. Большие надежды возлагались на УФ-облучение, поскольку оно разрушает все виды болезнетворных организмов, включая и устойчивые к воздействию хлора. Наиболее эффективным инактивирующим действием обладает УФ-облучение в диапазоне длин волн 205-295 нм - полихроматическое излучение, при котором процесс фотореактивации становится невозможным. Однако в указанном бактерицидном диапазоне спектра уровни чувствительности вирусов к действию УФ-излучения могут очень сильно различаться. Сложности при создании фильтр-систем для очистки воды, контаминированной вирусами, обусловлены малыми размерами вирионов. Поэтому создание высокоэффективных фильтров на основе новых наноразмерных материалов, синтезированных с помощью нанотехнологий, может быть перспективным. Однако для их применения важно детально исследовать взаимодействие вирусов с кандидатами в сорбенты и выбрать наиболее оптимальные из них.

В этой связи диссертационная работа Ивановой М.В. посвященная изучению сорбции вирусов на разные современные материалы, обладающими различной химической структурой, размерами и формой, имеет высокую актуальность. В работе были исследованы 17 сорбентов, которые включали углеродные материалы (детонационные наноалмазы, углеродные нанотрубки, композиты полианилина с разным содержанием серебра). В качестве объектов исследования были выбраны эталонные, эпидемические пандемические штаммы вирусов гриппа человека, вирусы гриппа птиц и реассортанты, вирус полиомиелита вакцинный штамм Сэбина типа 1 и фрагменты ДНК.

Этот выбор был обусловлен следующими обстоятельствами. Интерес к вирусам гриппа вызван широким разнообразием антигенных свойств возбудителя, широким распространением в мире, особенно среди водоплавающих, которое привело к интродукция вирусов гриппа птиц в человеческую популяцию. Результатом этого явилось как появление кандидатов в пандемические штаммы, так и самих пандемических штаммов А(Н1N1)рdm09, тройного реассортанта, содержащего гены вирусов гриппа человека, птиц и свиней. Для предотвращения вспышек и эпидемий полиомиелита, требуется проведение профилактических мероприятий, как специфических (вакцинопрофилактика), так и неспецифических (деконтаминация воды от вирусов с помощью фильтров и дезинфектантов), поскольку как показала практика возможна реверсия к вирусом к дикому варианту. Выбранные диссертантом модели отличались размерами и структурой. Вирус гриппа – оболочечный вирус с размером порядка ≤ 120 нм, вирус полиомиелита- безоболочечный размером < 30 нм. Все они являются РНК содержащими вирусами.

Научная новизна

В процессе исследования сорбционных взаимодействий вирусов гриппа человека и птиц, а также полиовируса с современными детонационными наноалмазными соединениями и полимерными композитами полианилина впервые была установлена способность этих материалов удалять из водных объемов вышеуказанные вирусные агенты.

Впервые показано, что введение атомов серебра в препараты полианилиновых нанотрубок способствует увеличению адсорбционной активности вирусов гриппа человека и птиц, а также вакцинного штамма Сэбина типа 1 вируса полиомиелита на данных полимерах.

Автором впервые обнаружена способность детонационных наноалмазных соединений адсорбировать вирусспецифические антитела из растворов иммунных сывороток.

Впервые была исследована сорбция фрагментов ДНК на детонационных наноалмазных соединениях.

Практическая значимость

Результаты работы открывают широкий спектр возможностей практического применения исследованных материалов. В частности, детонационные наноалмазы, а также нанокompозиты полианилина могут составлять основу антибактериальных и противовирусных фильтров для очистки воды от вирусов гриппа человека, вирусов гриппа птиц, вирусов полиомиелита и ряда энтеровирусов в водозаборных сооружениях. Предполагается также их использование в качестве иммуносорбентов в составе серологических тест-систем для анализа иммунных сывороток. Нанокompозиты полианилина могут найти применение в тест-системе для экспресс-диагностики вирусных инфекций.

Содержание диссертации

Диссертационная работа Ивановой М.В. построена по традиционному плану и состоит из разделов « Обзор литературы », « Собственные исследования », включающие 5 глав, « Обсуждение », « Выводов », списка литературы и списка публикаций. Объем диссертации составляет 138 страниц машинописного текста, работа хорошо иллюстрирована рисунками и табличным материалом (26 рисунков, 24 таблицы). На рисунках представлены: схемы использованных методических подходов, результаты электронно-микроскопических фотографий сорбентов, диаграммы и таблицы результатов взаимодействия вирусов гриппа с различными сорбентами в зависимости от антигенной структуры вирусов, параметров среды структуры сорбентов, электрофореграммы фрагментов ДНК и белка бычьего сывороточного альбумина до и после взаимодействия с сорбентами.

В разделе « Введение » обосновывается актуальность темы исследования, всесторонне освещается состояние научной разработанности проблемы, формулируются цели и задачи исследования, раскрывается новизна и практическая значимость работы.

Раздел « Литературный обзор » содержит 4 главы. В главе 1 рассматривается роль водной среды в распространении инфекций, вызванных различными вирусами. Приведенные факты свидетельствуют о важности выбора вируса гриппа в качестве модели для работ по изучению взаимодействия вирусов с сорбентами в водной среде.

Во второй главе дается краткая характеристика вируса полиомиелита и приведено обоснование его выбора в качестве второй модели для исследований взаимодействия вирусов с сорбентами.

В третьей главе обзора автор описывает взаимодействие микро и наноразмерных сорбентов с биологическими объектами. В главе приведены данные о сорбции вирусов гриппа, полиовируса, вирусов Коксаки и ротавирусов на сорбентах разной природы, а также взаимодействие наночастиц с биологическими объектами. В заключительной главе обзора представлена информация о свойствах и применении материалов, содержащих серебро. В целом, все разделы обзора изложены ясно, чему способствует использование разнообразных страниц.

Раздел « Собственные исследования» начинается главой « Материалы и методы», где диссертантом представлен список исследованных вирусологических объектов: 18 штаммов вирусов гриппа, включая эталонные и эпидемические, пандемические штаммы вирусов гриппа человека, вирусы гриппа птиц и реассортанты, а также вирус полиомиелита вакцинного штамма типа 1. Учитывая спектр наиболее опасных вирусных загрязнений в отечественных водоемах с нашей точки зрения было бы более целесообразно включить в число исследуемых вирусов ротавирусы, вирусы ЕСНО, и вирусы Коксаки, снизив при этом количество эпидемических штаммов вируса гриппа.

Список изученных сорбентов включает 17 материалов различной природы. Диссертантом в этой главе представлен широкий диапазон использованных методов, что свидетельствует о высоком методическом уровне работы.

В главе 2-ой собственных исследований приведены данные по сорбции вирусов гриппа, а также фрагментов ДНК на различные сорбенты, включая nanoалмазные материалы, углеродные нанотрубки и полимерные сорбенты, содержащие полианилин. Автором установлено, что исследованные вирусы интенсивно сорбировались из раствора на выбранные сорбенты. В данной главе детально рассмотрены различные факторы, влияющие на активность сорбции (время контакта, температура, состав растворов). Диссертантом показана возможность сорбции вирусов на углеродных нанотрубках, причем присутствие серебра в углеродных нанотрубках с полианилином усиливало сорбционные свойства материалов.

Результаты показали , что для производства высокоэффективных фильтров для обеззараживания воды наиболее перспективными по совокупности всех характеристик являются детонационные наносодержащие материалы (в частности, шихта, модифицированные nanoалмазы и композиты-полианилиновые нанотрубки, содержащие Ag (30% по весу). Взаимодействие вирусов с данными сорбентами было активнее, чем с остальными материалами, изученными в работе.

В следующей главе автором суммированы результаты исследований по сорбции вируса полиомиелита на углеродсодержащих наноматериалах и композитах –полианилиновых трубках, содержащих атомы серебра, из среды Игла. Полученные данные свидетельствовали о том, что вышеуказанные наноматериалы могли взаимодействовать с безоболочечными вирусами с разной эффективностью. Наибольшей активностью обладали графитизированные nanoалмазы и хлорированные nanoалмазы. Интересно отметить, что диссоциации иммуносорбентов на вирусы и сорбенты не наблюдалось, однако образованные иммунные комплексы обладали инфекционной активностью.

Представляло особый интерес исследовать взаимодействие белков невирусной природы с исследуемыми сорбентами, исходя из предположения о возможной конкуренции с вирусами за места связывания на сорбентах. В следующей главе диссертантом были определены допустимые концентрации

невирусных белков, при которых данные белки не мешали взаимодействию вирусов с сорбентами. Данные, полученные в этой главе также свидетельствовали о возможной сорбции антивирусных антител на исследуемых наноматериалах.

Заключительная глава диссертационной работы посвящена изучению токсичности наноматериалов *in vitro* и *in vivo*. Автор выявил допустимые концентрации наиболее активных наносорбентов, позволяющих физиологическую активность клеток и репродукцию вирусов в клеточной культуре. Определенный интерес представляют данные по влиянию изучаемых наноматериалов на гемопоэз лабораторных животных, как один из показателей токсичности наноматериалов на макроорганизмах.

В целом можно считать, что автором получены приоритетные данные о возможности сорбции на детонационных наноалмазных материалах и полианилиновых композитах оболочечных и безоболочечных вирусов. Продемонстрирована возможность взаимодействия с этими сорбентами фрагментов ДНК и белков невирусной природы. Результаты работы позволили диссертанту сделать вывод, что часть исследованных наноматериалов, использованных в работе, в том числе наноалмазные материалы, включая шихту и модифицированные наноалмазы, а также полианилиновые нанотрубки, могут рассматриваться как потенциальные сорбенты для производства различных антивирусных фильтров.

Исходя из практической направленности работы, с нашей точки зрения, диссертанту следовало бы попытаться исследовать потенциальную возможность многократного использования некоторых наноматериалов в качестве антивирусных фильтров. Положительные результаты в этом направлении значительно повысили бы практическую ценность работы.

Также, исходя из практической направленности работы, диссертанту, с нашей точки зрения, следовало уделить более серьезное внимание сорбции вирусов на исследуемых наносоединениях из водных сред с более низкой концентрацией вирусного материала.

Сделанные замечания не умаляют теоретическую и практическую ценность работы.

Автореферат отражает все основные положения диссертации. В заявке на изобретение РФ и четырех опубликованных статьях, в рекомендованных ВАК журналах и в 2-х статьях опубликованных в зарубежных научных журналах содержится большая часть результатов проделанной и представленной в диссертации работы. Кроме того полученные автором данные были представлены в материалах и тезисах на международных конференциях и конгрессах.

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов

Представленные к защите научные положения и выводы основаны на достаточном объеме экспериментального материала, полученного с помощью современных и классических методов исследования. Принципиальных замечаний по диссертации нет. Имеется наличие

небольших ошибок редакционного плана. Указанные недочеты не имеют принципиального значения и не снижают благоприятного впечатления от представленной работы.

Заключение.

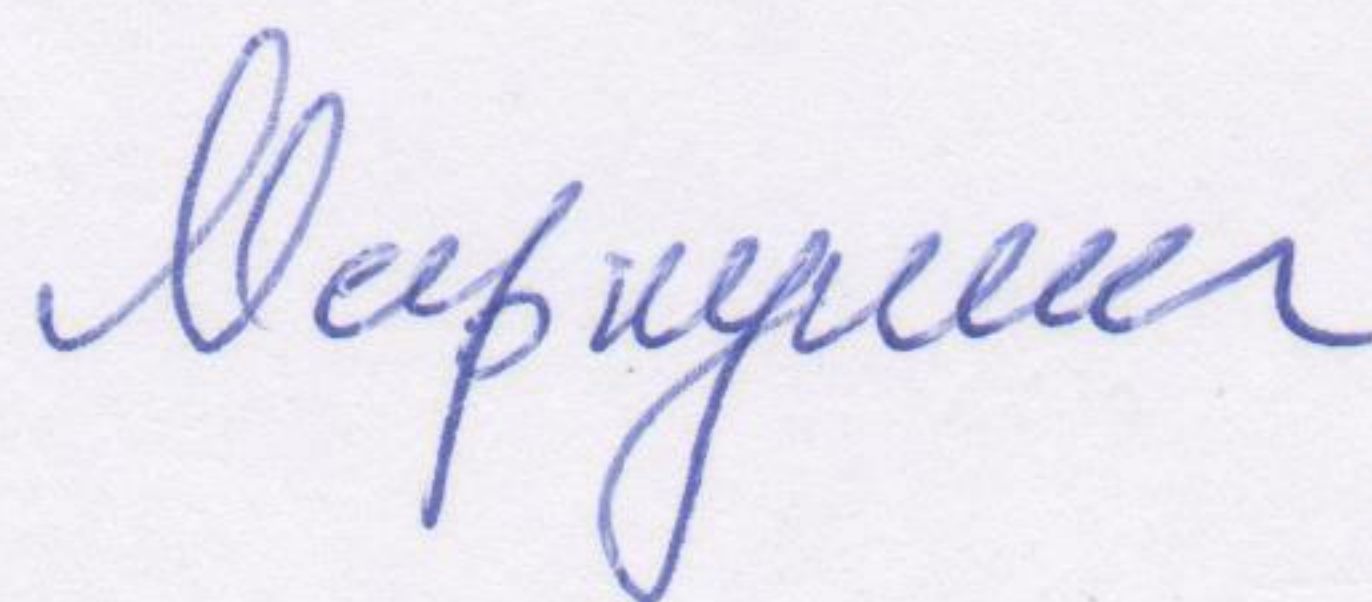
Диссертация Ивановой Марины Викторовны «Взаимодействия вирусов с детонационными наноалмазными материалами и композитами на основе полианилина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук может быть оценена как серьезное исследование методического характера в одной из актуальных областей современной науки, имеющее несомненную научно-практическую значимость: получение высоко эффективных сорбентов, для дальнейшего их использования в качестве фильтров для очистки воды от патогенных микроорганизмов – вирусов различной природы.

Диссертационная работа Ивановой М.В. отвечает требованиям п. 9 «Положением о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013г. №842 к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «вирусология» 03.02.02.

Официальный оппонент

заведующий лабораторией генетики РНК- содержащих вирусов ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»,
РАМН, Москва

доктор медицинских наук



Маркушин С. Г.

Подпись д.б.н. Маркушин С. Г. заверяю

Ученый секретарь Института
ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»,
РАМН, Москва

к.б.н.



Андропова Н.И.