

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию
Мохамеда Хекаля Абдельхакима Абдельазиз на тему: «Изучение антимикробных свойств дисперсных систем на основе жира личинок мухи черная львинка (*Hermetia illucens*) и обоснование перспектив их использования в медицине, ветеринарии и защите сельскохозяйственных культур», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.11. Микробиология

Широкое использование антибиотиков в лечении различных инфекционных заболеваний привело к появлению штаммов, резистентных к их действию. Причем в одних случаях бактериальные клетки приобретают устойчивость к воздействию какого-то определенного антибиотика (или близких по химической структуре соединений), а в других случаях у бактерий появляется устойчивость сразу ко многим химическим структурно разнообразным соединениям: различным антибиотикам, токсичным красителям, ингибиторам и другим агентам. Последний тип адаптации назван множественной резистентностью (англ. MDR, multidrug resistance) и представляет наиболее серьезную проблему для медицины. Кроме того, бактерии способны образовывать особый тип клеток — персистеры, которые толерантны к действию антибиотиков. Следует также отметить, что у бактерий присутствует такой тип адаптации, когда к действию токсичных соединений приспосабливаются не отдельные клетки, а их сообщество, формируя специфические структуры — биопленки. Разнообразие механизмов, определяющих устойчивость, к антимикробным соединениям, и способность адаптироваться к действию этих соединений, представляют на сегодняшний день серьезную проблему при лечении ряда заболеваний и определяют необходимость как создания новых по структуре и свойствам антибиотиков, так и поиску альтернативных по строению и механизму действия соединений. Наряду с использованием антисмысловых РНК, разработкой специфических «пролекарств», которые превращаются ферментативными системами самих бактерий в активные антибактериальные соединения, в последние 10 лет изучается возможность использования жирных кислот и моноглицеридов с антимикробным действием. В этой связи тема рассматриваемой работы представляется актуальной и важной.

Представленная к защите диссертация Мохамеда Хекаля Абдельхакима Абдельазиз является результатом комплексного исследования действия жирных кислот и их производных с биологической активностью, которые были выделены из жира личинок мухи черная львинка, на бактерии фил Pseudomonadota и Firmicutes, патогенные для различных организмов и демонстрирующие устойчивость к антибиотикам.

Диссертация состоит из Введения, 7 глав, Выводов, Списка сокращений,

Благодарностей и Списка литературы. По результатам работы опубликовано 3 статьи в журналах, индексируемых в системах Web of Science и Scopus. Введение включает все необходимые пункты, и продолжается Обзором литературы, составляющим пятую часть от общего объема работы. Обзор литературных данных в целом дает представление о проблеме и основных объектах исследования. Однако поскольку одна из основных задач работы состояла в анализе антимикробного действия выделенных экстрактов в этом разделе и при последующем анализе данных, то для оппонента осталось неясным, понимает ли диссертант разницу между (1) резистентностью бактерий к нескольким антибиотикам, обусловленную специфическими механизмами защиты, и (2) множественной резистентностью, когда один механизм (система) может обеспечивать резистентность к нескольким десяткам разных по структуре антимикробных соединений. Не обсуждается также принципиальное отличие резистентности к антибиотикам растущих бактерий и толерантность к этим соединениям клеток-персистеров.

Раздел Экспериментальные методы исследования в рецензируемой диссертационной работе имеет очень важное значение, поскольку наглядно показывает, что автор в ходе работы над диссертацией овладел самыми разнообразными методическими подходами, начиная от рутинных микробиологических методов, до получения и оценки экстрактов и комплекса микроскопических методов.

Основной раздел работы, посвященный полученным диссертантом результатам, показывает, что в ходе работы над диссертацией Мохамедом Хекаля Абдельхакимом Абдельазизом сделано несколько важных наблюдений, касающихся действия полученных из жира личинок экстрактов на жизнеспособность ряда патогенных бактерий с разной структурой клеточной стенки. Главная часть диссертационной работы представлена описанием результатов экспериментов, причем результаты и обсуждение объединены в рассматриваемой работе. С одной стороны, это вполне оправдано, следуя логике изложения и последовательности решения поставленных задач. Однако, с другой стороны, это привело к тому, что автор в основном описывает результаты, а собственно обсуждение сводится к ссылкам на литературу при изложении собственных данных и нет углубленного анализа и обобщения полученных результатов.

Наиболее значимая часть исследования, по мнению оппонента, связана с разработкой модифицированной методики для извлечения из жира личинок устойчивых биологически активных веществ, анализ состава экстрактов и обнаружение возрастания процентного содержания олеиновых кислот в ходе процедуры последовательной экстракции. Особо подчеркну большой объем данных, полученных и проанализированных диссертантом. Основные результаты исследования опубликованы в 3 рецензируемых

статьях, и представленных в этих публикациях данных было бы вполне достаточно для диссертационной работы. Включение автором дополнительных, неопубликованных пока результатов, которые требуют доработки, не улучшили работу, и вызывают замечания и вопросы.

Так раздел работы (6.2.4), посвященной подвижности, вызвал у ряд замечаний. Автор пытался анализировать три разных типа подвижности, выявленных у бактерий: плавание, роение и подтягивающую подвижность. Два первых способа передвижения определяются жгутиками, третий – особой органеллой, пилями IV типа. *K. pneumoniae* относятся к неподвижным бактериям. Работа, описывающая наличие полярного жгутика у одного из изолятов *K. pneumoniae* КрВUAP021 (Carabarin-Lima et al., 2016) не служит основанием для утверждения наличия двух разных органелл движения у штамма *K. pneumoniae* КРМ9, использованного в диссертации при попытке анализа движения. Поскольку геном штамма КРМ9 секвенирован, то прежде всего надо было показать наличие генов, кодирующих ключевые белки жгутиков и пилей IV типа, а при их наличии установить факт экспрессии этих генов. Кроме того, поскольку *K. pneumoniae* характеризуется как неподвижная бактерия, требуется корректное доказательство наличия органелл движения с помощью электронной микроскопии. После доказательства наличия жгутиков и пилей IV типа имеет смысл анализировать движение и тем более утверждать о способности бактерий к трем совершенно разным типам подвижности. При этом необходимо использование нескольких методов и обязательный контроль с анализом бактерий, у которых такая подвижность доказана. Основанием для обсуждения подвижности в работе является рис. 28 с фотографией очень низкого качества без контрольных бактерий, на основании которых судить о факте наличия биологической подвижности невозможно. Т.о., какие -либо выводы как о наличии сложной системы движения (плавание, роение, подтягивающая подвижность) у *K. pneumoniae* КРМ9, так и соответственно о влиянии на движение полученных экстрактов пока являются преждевременными и недоказанными. Для оппонента также осталось неясным, почему было бы не проанализировать возможное влияние экстрактов на движение тех бактерий, у которых движение уже доказано.

Другой пример касается анализа действия хлорида натрия на клетки двух штаммов: *S. aureus* ATCC 55804 и *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606. В пункте 7.7. автор изучает антибактериальную активность КВМЭЗ в присутствии NaCl, при концентрациях на которых указанные штаммы хорошо растут. Однако автор не объясняет, каким образом хлорид натрия мог бы воздействовать на антибактериальную активность экстракта и никак не обсуждает каким образом полученные данные могут быть использованы в терапии.

Хотелось бы также отметить, что полученные автором результаты показывают, что действие анализируемых экстрактов прямо или косвенно связано с дестабилизацией внешней или плазматической мембран, а вторая - многофункциональна у всех бактерий. В этой связи, не совсем корректно сравнивать действие и возможное появление резистентности к жирным кислотам и антибиотикам, которые имеют специфические белки-мишени в клетках. Поскольку ранее установлено антимикробное действие омега-6-ненасыщенных жирных кислот, которое связано со специфической мишенью еноил-редуктазой - перспективной мишенью для антибактериальных агентов, было бы интересно проанализировать полученный автором экстракт, который содержит эти кислоты, а также омега-9 ненасыщенные жирные кислоты, и их потенциальное действие на эту мишень белковой природы.

Русский вариант работы содержит много ошибок и некорректное использование или неудачный перевод ряда общепринятых терминов, как например: «тест на время **убивания**», «внеклеточные **придатки**», «**рыбопатогенных** бактерий», «мангрового **дерева слепого глаза**», «исследование кривых **времени уничтожения**», «ночную-культуру **обычно доводили до мутности**», «при минимальной **смертельной концентрации**» и т.д. Однако хорошее впечатление от работы сложилось у оппонента после ознакомления с опубликованными статьями и текстом диссертации на английском языке.

На основании вышеизложенного могу заключить, что диссертация Мохамеда Хекаля Абдельхакима Абдельазиз на тему: «Изучение антимикробных свойств дисперсных систем на основе жира личинок мухи черная львинка (*Hermetia illucens*) и обоснование перспектив их использования в медицине, ветеринарии и защите сельскохозяйственных культур» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Мохамед Хекаль Абдельхакима Абдельазиз заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.11. Микробиология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры микробиологии
Санкт-Петербургского государственного университета  Ермилова Е.В.

21.02.2023