

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета д.б.н. Манухова Ильи Владимировича
на диссертацию Мохамеда Хекаля Абдельхакема Абдельазиза 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

Актуальность избранной темы

Работа Мохамеда Хекаля Абдельхакема Абдельазиза отражает современные научные и прикладные тенденции в области поиска и применения новых биологически активных веществ, выделенных из жира личинок *H. illucens* и проявляющих антимикробные свойства против МЛУ-бактерий. Учитывая, что антибиотикорезистентность является основной проблемой, с которой сталкивается все страны мира в последние два десятилетия, поиск новых естественных, безопасных альтернатив антибиотикам является актуальной задачей. Обоснование функциональной значимости биологически активных соединений, выделенных их липидной фракции личинки *H. illucens*, логически представленное в диссертационной работе Мохамеда Хекаля, вызывает большой интерес и доказывает значимость проведенных исследований. Использование природных активных веществ, особенно жирных кислот (ЖК) и глицеридов, в качестве альтернативы антибиотикам потенциально открывает путь к созданию новых перспективных средств борьбы с возбудителями МЛУ, широко распространенными в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве. В этой связи работа является актуальной.

Методологически работа выполнена на современном уровне исследований. Для достижения цели диссертации и решения поставленных задач, автор использует интегральный подход, сочетающий методы микробиологии, биохимии, в том числе различные виды хроматографии, микроскопию и анализ токсичности для выяснения антибактериального механизма действия этих экстрагируемых соединений. Ее основу составляют как традиционные экспериментальные методы (экстракция, оценка антимикробной активности методами диффузии в агаровом диске и турбидиметрическим), так и современные инструментальные аналитические подходы (ГХМС анализ). В работе используются современные методы статистической обработки результатов. Проведен значительный цикл исследований, ключевыми результатами которых являются: разработка метода получения экстрактов из жира личинок *H. illucens*, оценка их растворимости в различных системах растворителей, оценка антибактериальной активности кислого водно-метанольного экстракта (КВМЭ), оценка молекулярного состава этого экстракта. Результаты эти обладают научной новизной, являются достаточно значимыми и достоверными.

Научная новизна выносимых на защиту результатов

Впервые разработан состав экстрагирующего раствора для извлечения биологически активных соединений из жира личинок *H. illucens*, состоящий из дистиллированной воды, метанола и соляной кислоты в соотношении 90:9:1 (об/об). Был разработан новый протокол трехступенчатой последовательной экстракции с помощью эмульсии дисперсионных систем (экстракты КВМЭ1, КВМЭ2, КВМЭ3. Автор впервые обратил внимание на содержание свободных жирных кислот (СЖК) в экстракте КВМЭ3 из жира личинок *H. illucens* в качестве основных антибактериальных средств против патогенных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Разработанная Мохамедом Хекалем процедура последовательной экстракции позволила обогатить и повысить активность СЖК, выделенных из жира личинок *H. illucens*, в отношении всех протестированных патогенных бактерий. Кроме того, процентное содержание олеиновых кислот, цис-изомеров, увеличенное при последовательной экстракции, дает основание к перспективе использования в будущем масла личинок *H. illucens* в качестве устойчивой биомассы для ее дальнейшего практического применения в медицине, ветеринарии и защите растений. Наиболее интересным результатом исследований является подтверждение того, что штаммы МЛУ- бактерий не индуцировали какой-либо устойчивости к ЖК, в то время как высокая устойчивость индуцировалась к различным классам антибиотиков в тех же условиях. Впервые была показана способность КВМЭ3 уничтожать биопленки, образованные различными вирулентными бактериями. Механизм антимикробного действия ЖК и их производных в составе КВМЭ3 был впервые продемонстрирован с помощью ряда биологических анализов на клеточном и молекулярном уровнях, включая деградацию клеточной стенки, клеточной мембраны, белков, генетического материала и утечку ионов, основанные на использовании таких современных методов микроскопии, как сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и атомно-силовая микроскопия (АСМ). КВМЭ3 был впервые протестирован против линий клеток почек человека НЕК-293 и показал высокую селективность в отношении уничтожения МЛУ-бактерий без уничтожения НЕК-293.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационной работы

Результаты проведенного исследования способствуют расширению теоретических знаний, связанных с биохимией и микробиологией молекул ЖК, в то время как разработка состава экстракционного раствора расширит наши знания до понимания механизма химических реакций, протекающих между маслом личинки мухи Черная львинка (ЛМЧЛ) и кислотно-водно-метанольным реагентом. Практическая значимость работы заключается в том, что научно обоснованные данные могут быть применены в сельском хозяйстве, промышленности и медицине, где методом последовательной экстракции получают большое количество СЖК и глицерина, которые можно фракционировать в дисперсионных системах. СЖК глицериды и глицерин могут быть использованы во многих промышленных направлениях, включая косметику, пищевые

добавки и другие. Кроме того, они могут быть эффективными терапевтическими средствами для уничтожения планктонных фитопатогенных, патогенов рыб и патогенов человека, а также бактериальных клеток в биопленках, образованных патогенными МЛУ штаммами человека, в целях широкого применения в секторе здравоохранения. Эти результаты могут быть использованы для более рационального проектирования новых натуральных лекарственных средств на основе комбинации жирных кислот и их производных для их конкретного применения в медицине, ветеринарии и защите растений.

Полнота опубликования основных результатов

Результаты диссертации опубликованы в трех научных рецензируемых журналах, что соответствует требованиям положения о присуждении ученых степеней кандидата наук в СПбГУ. Результаты были получены по результатам трех независимых экспериментов. Методы вариационной статистики подтвердили степень достоверности полученных экспериментов. Выводы были надежными при принятом уровне достоверности $p = 0,95\%$. По результатам диссертационной работы опубликовано 6 статей, из них 3 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых Web of Science и Scopus, и 3 статьи опубликованы в сборниках материалов международных конференций. Кроме того, результаты исследований были представлены на 11 международных конференциях.

Содержание диссертации

Диссертационная работа выполнена в Лаборатории разработки инновационных лекарственных средств и агробиотехнологий Московского физико-технического института (Национального исследовательского университета), Физтеховской школы биологической и медицинской физики, кафедры инновационной фармацевтики, медицинского оборудования и биотехнологий. Диссертация содержит введение, 7 глав, заключение, список литературы из 391 источников и приложение. Он написан на 223 странице машинописного текста, включает 55 рисунков, 27 таблиц и приложение, включающее 8 дополнительных рисунков и 3 дополнительные таблицы.

Вопросы и замечания

Существенных замечаний к данной работе у меня нет.

Технические замечания следующие

1. Первое и второе положения, выносимые на защиту, следовало бы объединить в одно т.к. они оба про методологию экстракции компонентов жира личинок.
2. Так же лучше было объединить 3, 5 и 9 положения, т.к. это один результат про воздействие на различных бактерий КВМЭЗ.
3. Не понятно, что имеется в виду в положении 8 и выводе 10. Дословно: «...КВМЭЗ был безопасен для клеток ЕПЧ-293 человека с ПК50 266,1 мкг/мл, будучи бактерицидным для всех бактериальных штаммов при тех же условиях». Если безопасен для НЕК и вреден для бактерий, то ингибирующая концентрация должна существенно отличаться от действующей на бактерии, разве не так?

Отмеченные недостатки не умаляют значимости проведенных исследований и не затрагивают справедливость полученных автором результатов и сделанных выводов, и не могут повлиять на общее положительное впечатление от работы, которая соответствует всем предъявляемым требованиям к научно-квалификационной работе аспиранта Мохамеда Хекаль Абдельхакима Абдельазиза.

Заключение

Диссертация Мохамеда Хекалья Абдельхакема Абдельазиза 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 Абдельхакем 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.

Член диссертационного совета

Доктор биол. наук,

Заведующий лабораторией молекулярной генетики, МФТИ

Манухов Илья Владимирович

«21» февраля 2023

ПОДПИСЬ РУКИ
ЗАВЕРЯЮ:
АДМИНИСТРАТОР КАНЦЕЛЯРИИ
АДМИНИСТРАТИВНОГО ОТДЕЛА
О. А. КОРАБЛЕВА

