

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Масейкиной Алены Александровны на тему: «Влияние новых абиотических факторов – производных замещенных аминокиндолов – на некоторые условно-патогенные микроорганизмы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.05.11 – Микробиология

Актуальность темы диссертации

Антибиотики, дезинфектанты и антисептики являются основными группами препаратов для борьбы с бактериальными инфекциями. Однако в последние десятилетия число патогенов, устойчивых к различным типам антимикробных препаратов, существенно увеличилось. В связи с этим, поиск новых антимикробных соединений и анализ антибактериального потенциала нового класса синтетических соединений – хлорсодержащих производных замещенных аминокиндолов, обозначенный как цель диссертационной работы, является чрезвычайно актуальным.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации обеспечена комплексным анализом профильной научной литературы, а также совокупностью микробиологических, биоинформатических и статистических методов, включая метод сканирующей электронной микроскопии и способ выявления и оценки генотоксичности и мутагенности.

Достоверность проделанной работы подтверждается значительным объемом проведенных исследований и корректных методов. Результаты диссертационного исследования опубликованы в 15 изданиях, из них 4 – в рецензируемых журналах, входящих в базы цитирования Scopus/Wos и перечень ВАК; получено 3 патента Российской Федерации на изобретения и 1 патент на полезную модель Российской Федерации. Результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на всероссийских научных конференциях.

Новизна исследования, значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты обладают несомненной новизной, поскольку впервые дана оценка антимикробного потенциала новой группы химических соединений, представляющей собой 12 хлорсодержащих производных замещенных 5-, 6-, 7-аминоиндолов. Результаты показали, что данные соединения проявляют выраженное антимикробное действие против различных бактериальных видов и штаммов, включая референсные и клинические изоляты рабочей коллекции, в минимальных подавляющих концентрациях (МПК) в диапазоне от 0,98 до 250 мг/л.

Одним из ключевых результатов является установление высокой активности четырех изученных соединений: 2-хлор-N-(2,3-диметил-1H-индол-7-ил)ацетамид (Т1), 2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1H-индол-6-ил)ацетамид (Т4), 2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1H-индол-6-ил)ацетамид (Т7) и монохлорацетат 2,3-диметил-1H-индол-7-аммония (Т12). Эти соединения продемонстрировали более низкие МПК по сравнению с препаратами сравнения (бензалкония хлорид, диоксидин, хлоргексидин, нитрофурантоин и фосфомицин) в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Показано, что изучаемые соединения оказывают воздействие на проницаемость клеточной стенки бактерий, что подтверждено экспериментами со снижением поглощения красителя кристаллического фиолетового. Также, с применением сканирующего электронного микроскопа (СЭМ), были получены данные о структурных изменениях клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* под воздействием хлорсодержащих производных.

Практическая и научная ценность работы Масейкиной Алены Александровны заключается, в первую очередь, в том, что по результатам исследования установлен бактерицидный характер антимикробного

воздействия исследуемых соединений. Это подтверждено как традиционным методом (отсутствие видимого роста культуры *Staphylococcus aureus* в течение 5 суток), так и новым методом, включающим оценку коэффициента оптической плотности жидкой питательной среды при культивировании микроорганизмов с антимикробными веществами.

Кроме того, значимость для науки и практики представляет создание рабочей коллекции штаммов микроорганизмов, имеющей различную чувствительность к традиционным антимикробным препаратам и исследуемым соединениям; микрофотографиях бактериальных клеток *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *E. coli*, используемых для изучения морфоструктурных изменений клеток под воздействием противомикробных соединений; новых хлорсодержащих ацетатов 5-,6-,7-аминоиндолов, обладающих высокой активностью против условно-патогенных микроорганизмов и используемых при изучении микробиологических и молекулярно-биологических основ химиотерапии инфекционных заболеваний, классификации антимикробных препаратов, механизмов их действия и побочных эффектов.

Содержание диссертации, ее завершенность

Диссертация изложена на 153 страницах печатного текста, содержит 36 рисунков, 14 таблиц, и построена по классическому принципу, включая титульный лист, оглавление, введение, обзор литературы, экспериментальная часть, включающая в себя материалы и методы исследования, полученные результаты и их интерпретацию, заключение, выводы, список использованных источников, а также рекомендации по использованию результатов и список сокращений.

Обзор литературы содержит 221 библиографический источник и полностью соответствует содержанию работы. Автор провела анализ современного состояния проблемы, обосновала необходимость поиска новых мишеней для антимикробных соединений и подробно рассмотрела алкалоиды – производные индола, как потенциальные биологически активные соединения. Раздел «Материалы и методы исследования» включает подробное описание

используемых соединений, препаратов сравнения, штаммов микроорганизмов, питательных сред для культивирования и условий их хранения. Стоит отметить высокий методический уровень работы: наряду с классическим микробиологическим анализом, автор использовались компьютерное прогнозирование биологической активности, сканирующая электронная микроскопия, фотометрия, Рес-тест и тест Эймса.

Раздел «Полученные результаты и их интерпретация» состоит из 7 подразделов, в которых приведены основные результаты проведенного исследования.

Масейкиной Аленой Александровной выполнено обширное микробиологическое исследование по выделению и созданию рабочей коллекции *S.pyogenes*, *S.pneumonia*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli* из образцов больных с различными неспецифическими заболеваниями мочевыводящих путей, органов дыхания, кишечника. Все полученные микроорганизмы были различны по своей чувствительности к традиционным антимикробным препаратам и были использованы в дальнейшем исследовании. Синтезированные хлорсодержащие производных замещенных 5-, 6-, 7-аминоиндолов сначала были рассмотрены с помощью компьютерной системы прогнозирования биологической активности веществ PASS (*in silico*), затем определены минимальные подавляющие концентрации по отношению к грамположительным и грамотрицательным тест-штаммам и опытным штаммам микроорганизмов рабочей коллекции. Проведено сравнение полученных образцов с другими существующими противомикробными соединениями, а также с ранее исследованными соединениями производными 4-, 5-, 6-, 7-бензаминдолов (*in vitro*).

Результаты комплексного микробиологического исследования указали на бактерицидный тип действия соединений Т1, Т4, Т7 и Т12. После чего, автором были оценены мутагенные и ДНК-повреждающие свойства тестируемых соединений. Получены данные, что Т1, Т4 и Т7 не оказывают ДНК-повреждающего эффекта, однако выявлена мутагенность соединения Т1.

Соединение с лабораторным шифром Т12 демонстрирует ДНК-повреждающий эффект.

В заключении диссертации содержится шесть выводов, логически вытекающих из представленных результатов и соответствующих поставленным в работе целям и задачам. Нет сомнений в значительном личном вкладе автора в проведенное исследование.

Автореферат ясно отражает содержание диссертации, написан научным языком. Корректность цитирования и отсутствие некорректных заимствований подтверждают качество работы.

Вопросы и замечания:

1. На странице 45 идет ссылка на приказ МЗ СССР №535, который в настоящее время не действует. Желательно, чтобы автор указал также и современные нормативные документы.
 2. На страницах 112, 113 (рисунки №32, № 33) имеется несоответствие между временной шкалой и временем экспозиции, указанным в подписи к рисункам.
 3. Заключение смотрится чрезмерно кратким (лаконичным), хотелось бы более подробного анализа.
 4. На странице 52 при описании формулы расчета коэффициента оптической плотности культуральной среды не очень понятно, какое максимальное количество разведений автор рекомендует использовать в формуле.
 5. Какое преимущество дает использованный диссертантом метод определения МПК и МБК по коэффициенту оптической плотности культуральной среды по сравнению с классическим методом (посевы в жидкую среду с последующим высевом на чашки Петри)?
 6. Что именно из диссертационной работы нашло отражение в патенте?
- Тем не менее, вышеуказанные замечания и поставленные вопросы не снижают научной и практической ценности работы.

Заключение

Диссертация Алены Александровны Масейкиной по теме «Влияние новых абиотических факторов – производных замещенных аминокислот – на

некоторые условно-патогенные микроорганизмы» представляет собой
завершенную работу. Работа отличается своей актуальностью,
методологической основой, оригинальными исследованиями, а также научным
и практическим вкладом и соответствует требованиям п.9 «Положения о
присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением
Правительства РФ №842 от 24.09.2013, с изменениями, утвержденными
постановлениями Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723,
от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 №
1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, и
требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени
кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной
медицины федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский
медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации (ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России); 603000, г. Нижний
Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; тел. +7(920) 012-56-67,
e-mail: maya.zaslav@gmail.com

доктор биологических наук, доцент  Заславская Майя Исааковна

« 16 » ноября 2023 г

Подпись Заславской Майи Исааковны заверяю:

Ученый секретарь

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ
ВО ПИМУ Минздрава России); 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и
Пожарского, д. 10/1, тел: +7-831-439-09-43; факс: +7-831-439-01-84;
официальный интернет-сайт: <https://pimunn.ru> или pimu.pf; e-mail:
rector@pimunn.net

доктор биологических наук

Андреева Наталья Николаевна

