

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Безматерных Ксении Викторовны
«Влияние биологически активных соединений на индукцию стрессовых
регулонов и толерантность к антибиотикам у бактерий *Escherichia coli*»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Актуальность темы диссертации

Окислительный стресс, возникающий при действии активных форм кислорода (АФК) на живые клетки, сопровождается резкой интенсификацией свободнорадикальных процессов, и как следствие, повреждением ДНК, белков и липидов и, в определенных условиях, гибелью клеток. Эти события являются одними из патогенетических звеньев неврологических и психических поражений ЦНС, процесса старения, воспалительных, сердечно-сосудистых, онко- и других заболеваний. Для эффективного лечения и профилактики таких заболеваний фармацевтический рынок предлагает большой выбор препаратов, в том числе, содержащих полифенолы и фитоэкдистероиды. Однако, биодоступность многих редокс-активных полифенольных соединений достаточно низкая. Вследствие этого концентрация таких полифенолов в плазме очень мала, что делает маловероятным их непосредственное участие в прямом антиоксидантном действии на клетки человека и животных. В то же время, установлено, что кишечная микробиота, представляющая собой важный экстракорпоральный метаболический орган, играет важную, если не решающую, роль в метаболизме полифенолов и может выступать как вероятный посредник их положительного влияния на здоровье человека.

Актуальность изучения эффектов биологически активных соединений (БАС) на микробиоту кишечника определяется их потенциальной способностью модулировать чувствительность бактерий к антибиотикам. Предложенная в последнее десятилетие гипотеза о том, что окислительный

стресс является единым механизмом гибели клеток при действии различных антибиотиков, вызвала неоднозначную реакцию научного сообщества. Если она верна, то можно предполагать, что антиоксидантная активность биологически активных соединений может интерферировать с действием антибиотиков, влияя тем самым на эффективность антибактериальной терапии. Исследования в данной области, как правило, ограничиваются изучением антимикробной и мутагенной активности полифенолов, в то время как роль полифенолов, и особенно экдистероидов, в этом процессе отражена в единичных публикациях. Таким образом, вышесказанное позволяет заключить, что работа Безматерных Ксении Викторовны является несомненно актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы и логически вытекают из анализа результатов выполненных исследований.

Достоверность и новизна исследования и полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом исследований, а также использованием современных методик, адекватных поставленным задачам, и не вызывает сомнения.

В диссертационной работе впервые с использованием комплекса физико-химических методов и микробной тест-системы продемонстрирована зависимость антиоксидантной активности изучаемых препаратов от способности хелатировать двухвалентное железо, аутоокисляться с образованием H_2O_2 и усиливать экспрессию генов, кодирующих каталазу-гидропероксидазу НРІ и Мп-супероксиддисмутазу.

Впервые показана способность изучаемых препаратов растительного происхождения модифицировать действие антибиотиков, которая зависела как от природы и концентрации предобработки, так и от типа и дозы антибиотика. Сложный характер воздействия субстанций на эффект

антибиотиков, по-видимому, был опосредован их совместным влиянием на скорость роста и индукцию защитных систем бактерий.

Впервые обнаружена способность препаратов, содержащих экдистероиды, вызывать SOS-ответ в клетках *E. coli*. Также установлена способность некоторых исследованных субстанций модифицировать SOS-ответ, индуцированный ципрофлоксацином. Низкие дозы кверцетина и ресвератрола стимулировали экспрессию гена *sulA*, принадлежащего к SOS-семейству, что сопровождалось усилением бактерицидной активности антибиотика, в то время как высокие концентрации, напротив, снижали индукцию SOS-ответа и уменьшали чувствительность к антибиотику. Это может указывать на конкурентный характер взаимодействия между полифенолами и ципрофлоксацином за сайт связывания на ДНК-гиразе.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций

На основании проведенных исследований Безматерных К.В. получены экспериментальные данные, которые вносят вклад в решение актуальной фундаментальной проблемы, связанной с изучением механизмов устойчивости бактерий к действию оксидантов и бактерицидных антибиотиков. Модуляция восприимчивости бактерий к антибиотикам с помощью препаратов, содержащих биологически активные соединения, может иметь важное практическое значение при комплексной терапии бактериальных инфекций и разработке новых антимикробных препаратов.

Содержание диссертации, ее завершенность, публикации автора в научной печати

Задачи диссертационной работы четко сформулированы и соответствуют поставленной цели. На защиту выносятся 5 положений, последовательно раскрывающих содержание работы, основанной на большом объеме данных, полученных в ходе собственных исследований диссертанта. Диссертационная работа безупречно логически структурирована, изложена понятно, четко и грамотно. Последовательность представленного материала создает целостное представление о содержании

диссертации. По отдельным главам и по работе в целом приведены соответствующие выводы, отражающие полученные научные и практические результаты. К достоинствам диссертационной работы следует отнести корректно обоснованную теоретическую и практическую оценку полученных результатов, глубину проработки рассматриваемой предметной области. Текст диссертации изложен на 165 страницах машинописного текста, иллюстрирован 51 рисунком и 7 таблицами. Диссертация построена по традиционному типу и состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Объектов и методов исследования», «Результатов», «Обсуждения» и «Заключения». «Выводы» кратко суммируют выполненные задачи и основные положения диссертации, выдвинутые на защиту, и соответствуют полученным автором результатам.

Анализ современной литературы позволил диссертанту представить достаточно полные, объективные и современные научные сведения о состоянии изучаемой темы. Успешное применение современных физиолого-биохимических и молекулярно-генетических подходов и методов позволило выполнить диссертационную работу на достаточно высоком уровне. Несомненным достоинством работы является обнаружение у исследуемых препаратов способности не только вызывать изменения физиологических параметров культур бактерий, но и модулировать экспрессию конкретных генов, участвующих в стрессовом ответе при воздействии на бактерии оксидантов и антибиотиков. Вместе с тем выявление соединений, способных усиливать эффект антибиотиков, открывает перспективы их практического применения для совместного использования в антибиотикотерапии.

Список литературы включает 318 источников, из них 302 иностранных. Краткое содержание глав диссертационной работы, основные выводы и результаты адекватно представлены в относительно объемном автореферате диссертации, содержание которого соответствует содержанию диссертации.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, в достаточной мере опубликованы в научной печати и доложены на научных

конференциях различного уровня. Список публикаций содержит 26 работ, в том числе 6 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Работа выполнена на очень хорошем уровне, достаточном для кандидатских диссертаций, и оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК РФ.

Замечания и вопросы

В целом каких-либо существенных критических замечаний к работе нет, но есть вопросы уточняющего характера:

1. Положительный эффект воздействия полифенолов на здоровье человека известен и изучался ранее. Что принципиально нового Вы обнаружили в этом направлении?

2. Изменится ли разнонаправленный характер влияния высоких и низких концентраций тех же ресвератрола и кверцетина при действии антибиотиков на другую бактериальную модель, на другие микроорганизмы?

3. Что более перспективно: единая композиция из антибиотика и растительного экстракта или последовательное применение препаратов при антибиотикотерапии?

4. Могут ли условия ЖКТ существенно повлиять на проявление чувствительности клеток к антибиотикам? В отличие от условий *in vitro*?

Диссертация К.В. Безматерных является законченным научным исследованием, заслуживающим безусловной положительной оценки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Безматерных Ксении Викторовны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи о влиянии биологически активных соединений на стрессовые регулоны и толерантность к антибиотикам у бактерий *Escherichia coli*, имеющей важное значение для развития микробиологической отрасли научного знания, что полностью соответствует требованиям п. 9 Положения

о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842. А ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Официальный оппонент,
доктор медицинских наук по специальности 03.00.07 – Микробиология
начальник отделения препаратов бактериотерапии Филиала АО «НПО
«Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед»

614089, г. Пермь, ул. Братская, д. 177;
+73422628285; neschislayew@gmail.com



/ Несчисляев Валерий Александрович/

Дата

15.01.2019г



Подпись Несчисляева В.А. заверяю

начальник ОПРСП



Подпись ФИО