

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Тюминой Елены Александровны «Биодеструкция диклофенака натрия актинобактериями рода *Rhodococcus*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология

Актуальность темы диссертационной работы. Повсеместное распространение хронических заболеваний, демографическое старение, появление и доступность новых лекарственных средств обуславливают беспрецедентный рост потребления фармпрепаратов населением. Удручающими представляются статистические данные, согласно которым половина всех произведенных лекарственных препаратов назначается, распределяется и реализуется ненадлежащим образом. И, казалось бы, ожидаемые успехи фармацевтической промышленности в сохранении здоровья населения резко оборачиваются серьезной экологической угрозой мирового масштаба: около 700 фармацевтических препаратов и их метаболитов обнаружены в водных и наземных экосистемах на всех континентах. В связи с этим массовое развитие находят исследования путей поступления фармацевтических препаратов и их производных в окружающую среду, судьбы фармполлютантов в открытых экосистемах, а также всестороннего влияния экологических уровней фармпрепаратов на живые организмы.

Следует отметить, что в Пермском крае осуществляются федеральные программы по модернизации и расширению фармацевтического производства. Естественно, создание фармацевтического кластера и последующие нарастание объемов фармацевтической промышленности в регионе повлечет за собой увеличение выброса опасных медикаментозных отходов в окружающую среду. Большинство станций очистки сточных вод, в том числе города Перми, не могут обеспечить эффективную очистку от лекарственных средств. Это приводит к постоянному медикаментозному загрязнению водных объектов, в результате чего данные поллютанты оказывают негативное влияние на жизнь гидробионтов. Отсюда потребность

в эффективных технологиях, направленных на детоксикацию и выведение их из водных и наземных экосистем, сложно переоценить. В этих условиях исследования путей поступления, миграции и преобразования фармполлютантов в окружающей среде, токсического действия их на микроорганизмы-деструкторы, механизмов детоксикации и выведения фармполлютантов из водных и наземных сред являются важными и своевременными. Все это определяет актуальность диссертационного исследования Тюминой Е.А., касающегося биодеструкции диклофенака натрия, популярного нестероидного противовоспалительного препарата, часто и повсеместно детектируемого в окружающей среде.

В качестве перспективных биокатализаторов в данной работе всесторонне исследуются родококки. Такой выбор представляется вполне оправданным: родококки известны своей высокой катаболической активностью в отношении широкого спектра ксенобиотиков, в том числе фармацевтических веществ. Между тем, метаболизм фармполлютантов группы нестероидных противовоспалительных препаратов родококками не изучен.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов диссертации. Диссертантом вынесены три положения, экспериментальное обоснование которых последовательно раскрывается в тексте рукописи. Выполнение диссертационного исследования потребовало проведения значительного объема экспериментов, результаты которых автор успешно систематизировал и изложил в сжатой форме. Выводы диссертационного исследования информативны и основаны на представленных в работе фактическом материале и полученных результатах. Достоверность диссертационной работы подтверждена большой выборкой исследованных объектов (104 коллекционных штамма родококков), разнообразием использованных микробиологических, спектроскопических, хроматографических, биохимических методов, а также методов компьютерного прогнозирования. Полученные результаты подвергнуты

адекватному статистическому анализу, систематизированы и представлены в виде таблиц, графиков и рисунков.

Научная новизна исследования отражена в полученных сведениях, расширяющих представление о биокаталитическом потенциале родококков. Представляется необходимым отметить следующие моменты: с использованием биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов автором впервые показана способность родококков к биодеструкции диклофенака натрия (50 мкг/л и 50 мг/л); выявлены специфические особенности реакции родококков на присутствие диклофенака натрия (формирование клеточных агрегатов, изменение морфометрических и физико-химических характеристик клеточной поверхности); идентифицированы метаболиты, представляющие фумарилацетоуксусную кислоту и ее производные, не обладающие (эко)токсическими эффектами.

Значимость полученных результатов для науки и практики. Диссертационная работа Тюминой Е.А. сочетает в себе фундаментальные научные достижения и результаты, ориентированные на прикладные аспекты решения проблемы нейтрализации фармполлютантов. Так, теоретическая ценность работы представляется в виде новых приоритетных данных о каталитических возможностях родококков, что является подтверждением их исключительной экологической роли в процессах очищения от ксенобиотиков, в том числе фармполлютантов. На основе полученных экспериментальных данных отобран штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346, использование которого будет защищено Патентом на изобретение РФ (получено положительное решение о выдаче патента), выявлены особенности воздействия диклофенака на бактериальную клетку, описаны пути метаболизма диклофенака до простых соединений. Все это, несомненно, обеспечит возможность создания рациональных, эффективных и экологически безопасных биотехнологических способов детоксикации фармотходов и повысит результативность очистных сооружений в отношении фармполлютантов.

Структура и содержание диссертации, ее завершенность.

Диссертационная работа Тюминой Е.А. построена в соответствии с традиционным планом, изложена на 182 страницах машинописного текста, содержит 19 таблиц и 43 рисунка. Включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, три главы собственных результатов и обсуждения, заключение, выводы, список сокращений и список цитируемой литературы, включающий 355 наименований работ, в том числе 29 отечественных и 326 зарубежных авторов.

Во «Введении» автор аргументирует актуальность предпринятых исследований, формулирует цель и задачи исследования, излагает теоретическую и практическую значимость работы.

«Обзор литературы» написан хорошим литературным языком, позволяет представить детальную картину текущего состояния проблемы фармацевтического загрязнения окружающей среды: от распространения диклофенака в открытых экосистемах и его экотоксических эффектах до биологических способов трансформации и детоксикации. По приведенным данным становится понятным, что обнаружение лекарственных препаратов в окружающей среде – действительно острая проблема, охватывающая мировое сообщество и требующая безотлагательных скоординированных действий. Однако знания о микробном метаболизме диклофенака, его воздействии на экологически значимые группы микроорганизмов единичны и недостаточны для поиска всестороннего решения данной проблемы. Особое внимание автора уделено вопросам оценки преимуществ использования бактерий рода *Rhodococcus* для нейтрализации фармацевтических поллютантов.

В главе «Материалы и методы» описаны объекты и методы исследования, используемые в работе. Данные методы адекватны поставленным задачам, включают широкий спектр традиционных микробиологических и современных аналитических, биохимических, биокаталитических, микроскопических методик и способов компьютерного и математического анализа данных.

Результаты собственных исследований выстроены последовательно и систематично, отражают решаемые автором задачи и сопровождаются критической оценкой и сопоставлением с опубликованными известными данными. В главе 3 приводятся сведения об устойчивости коллекционных штаммов родококков в отношении диклофенака, результаты изучения динамики и кинетики процесса биодеструкции разных концентраций диклофенака родококками, в главе 4 – данные по особенностям взаимодействия и ответным реакциям бактериальной клетки на присутствие токсичного диклофенака натрия, в главе 5 – результаты идентификации продуктов биодеструкции диклофенака, оценка их фито- и экотоксичности. Автором впервые получены сведения, подтверждающие способность родококков к деструкции сложной ароматической дегалогенированной структуры диклофенака натрия до простых, экологически безопасных продуктов. Несомненно, эти данные вкупе с выявленными характерными адаптационными механизмами родококков на воздействие диклофенака подчеркивают не только эффективное противостояние бактерий токсичному фармполлютанту, их физиологическую пластичность, направленную на формирование устойчивых к диклофенаку форм, но и, самое главное, обосновывают тезис о важной экологической роли актинобактерий рода *Rhodococcus* в процессах самоочищения открытых экосистем от фармацевтических загрязнителей.

«Заключение» диссертационной работы дает полноценное представление о характере и последовательности выполненного исследования, акцентирует внимание на основных полученных результатах, определяет перспективы их использования в науке и практике. «Выводы» диссертационной работы отражают суть проведенных исследований, лаконично сформулированы и соответствуют поставленным задачам.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, в достаточной мере опубликованы в научной печати и доложены на научных конференциях разного уровня. Список публикаций содержит 12 работ, в том числе в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ

(«Микробиология») и международные системы научного цитирования Web of Science и Scopus («Scientific Reports», «Microbiology Australia», «IOP Conference Series: Materials Science and Engineering»). Получено Положительное решение о выдаче патента на изобретение РФ «Штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346 – биодеструктор диклофенака натрия».

Автореферат диссертации Тюминой Е.А. полностью отражает основные идеи и выводы диссертационной работы.

В целом диссертационная работа Тюминой Е.А. выполнена на высоком профессиональном уровне и оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ. Содержание диссертации обладает внутренним единством, хорошо проиллюстрирована таблицами, графиками, рисунками и хроматограммами.

Несмотря на общую положительную оценку диссертационной работы, возникает ряд замечаний и вопросов:

1. В качестве замечания следует отметить избыточность некоторых таблиц (например, табл.6, стр. 61–67).

2. В таблице 5 в качестве биодеструкторов указаны некоторые виды водорослей, однако пояснения в тексте диссертации отсутствуют.

3. Поскольку в работе вскользь упоминается синергетический характер токсического действия фармацевтических смесей (табл.7, стр. 88), хотелось бы видеть в том числе данные по биодеструкции комплекса лекарственных веществ.

4. Как можно объяснить высокую устойчивость к диклофенаку натрия штаммов родококков, выделенных из грунтовых вод?

5. В технологии обезвреживания диклофенака натрия автор диссертации предлагает приемы, связанные с преинкубацией, иммобилизацией родококков и внесением дополнительного ростового субстрата. Насколько критично исключение любого из них в плане эффективности способа биодеструкции?

6. Как автору диссертации представляется процедура возможного внедрения разработанного способа биодеструкции фармпрепаратов на очистных сооружениях и какова, с точки зрения диссертанта, предполагаемая

экономическая эффективность способа в сравнении с гипотетическими альтернативными технологиями не микробиологического характера?

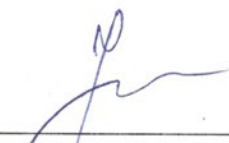
Заключение. Диссертационная работа Тюминой Елены Александровны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по бактериальной метаболизации фармполлютантов, и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (ред. от 01.10.2018). А ее автор – Тюмина Е.А. – заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

Официальный оппонент,
доктор медицинских наук по специальности 03.00.07 Микробиология,
профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2.

Тел.: +7 (342) 282-58-42

E-mail: neschislayew@gmail.com



/ Несчисляев Валерий Александрович /

Дата 02.12.2019

Подпись Несчисляева В.А. заверяю

Иск. специалист по персоналу



