

**«УТВЕРЖДАЮ»**  
Проректор ФГБОУ ВО «Российский университет  
медицины» Министерства здравоохранения РФ,  
Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,  
профессор Н.И. Крихели



24 марта 2025 г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Сенягина Александра Николаевича на тему: «Исследование антагонистического действия L-лизин- $\alpha$ -оксиды продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai на условно – патогенные и непатогенные микроорганизмы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки)

#### **Актуальность темы выполнения работы**

Мультирезистентные и полирезистентные к антимикробным фармакопрепаратам штаммы микроорганизмов, выделяемые при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) представляют собой крайне актуальную проблему современной медицины. В течение ряда лет в материалах ВОЗ принято выделять особую группу ESKAPE патогенов, которая включает мультирезистентные штаммы стафилококков, энтерококков, клебсиелл и некоторых других возбудителей внутрибольничных инфекций. Соответственно, поиски альтернативных путей преодоления антибиотикорезистентности этих микробов являются одними из приоритетных задач современного практического здравоохранения и медицинской науки в целом. На решение этих вопросов направлена, в частности, программа SKAT (стратегия контроля антимикробной терапии), разработанная в Российской Федерации.

Известно, что микробный антагонизм лежит в основе многих противомикробных препаратов. С каждым годом в ходе исследований

обнаруживается все большее количество веществ, обладающий антагонистической активностью в отношении возбудителей инфекционных заболеваний. С другой стороны, микроорганизмы, особенно прокариоты, приобретают все новые мутации и приспособления, помогающие в выживании в присутствии антибиотиков. Одним из важнейших механизмов приспособления является способность образовывать биопленки, в составе которых даже не резистентные инфекционные агенты приобретают устойчивость.

Метаболиты грибов рода *Trichoderma* хорошо известны своим антагонистическим воздействием в отношении фитопатогенов и активно используются в сельском хозяйстве. Исследования последних 10 лет показали, что сам фермент L-лизин- $\alpha$ -оксидаза продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai может ингибировать размножение не только фитопатогенов, но и представителей семейств *Mycoplasmataceae* и *Aholeplasmataceae*.

Таким образом, диссертационная работа Сенягина Александра Николаевича посвящена актуальной проблеме - изучению антагонистической активности фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum*

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В рассматриваемом аспекте противодействия выработке и распространению антибиотикорезистентности значительный научный и практический интерес представляют метаболиты грибов, в частности, грибов рода *Trichoderma*, которые хорошо известны как продуценты метаболитов с ферментативной активностью, обладающие антагонистическим действием по отношению к различным микроорганизмам и другим грибам, что можно рассматривать как перспективное направление при поиске новых кандидатных субстанций. Установлено, что разные виды и штаммы грибов *Trichoderma* отличаются по уровню продукции этих метаболитов и по активности. Одним из таких продуцентов является *T. harzianum* Rifai.



Соответственно, цель исследований, поставленная в диссертации Сенягина Александра Николаевича, имеет несомненную актуальность и практическое значение, так как посвящена изучению антагонистической активности фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai на условно – патогенные и непатогенные микроорганизмы.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в усовершенствовании методов культивирования гриба-продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai и получения фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы с максимальной активностью. Впервые был внедрен модифицированный метод определения активности фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы с использованием не канцерогенного реактива тетраметилбензидина. Данный метод адаптирован для проведения в планшетах и может быть использован для определения активности других ферментов.

В представленной диссертационной работе впервые было выявлено ингибирующее действие грибкового ферментного комплекса в отношении проблемных условно-патогенных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* и некоторых других. При этом были установлены параметры минимальной ингибирующей концентрации фермента для каждого исследуемого микроорганизма, включая коллекцию штаммов уропатогенных кишечных палочек.

Автором также впервые была изучена антагонистическая активность в отношении процесса образования микробных биоплёнок таких проблемных патогенов, как энтерококк, клебсиелла и синегнойная палочка. При этом были выявлены некоторые закономерности процесса, в частности, показано, что максимальное ингибирование биопленкообразования наблюдалось при внесении фермента в начале инкубации (лог-фаза) и достигало 100% для многих штаммов.

## **Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки**

Данная диссертационная работа соответствует приоритетным направлениям стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, так как в ней рассматриваются пути создания новых кандидатных фармакологических препаратов, направленных на противодействие или преодоления резистентности бактериальных культур к антибиотикам.

Работа выполнена в рамках НИР медицинского института ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы «Низкомолекулярные сигнальные вещества (quorum sensing) микробного происхождения, как модуляторы чувствительности микроорганизмов к химиопрепаратам» (номер государственной регистрации: 031622-0-000)

## **Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации**

Научное и практическое значение результатов, полученных А.Н. Сенягиным, не вызывает сомнения. В результате проведённых исследований были получены новые знания о ферменте L-лизин- $\alpha$ -оксидазы, а также о его продуцентах-грибах *Trichoderma harzianum* Rifai F – 180. Были разработаны оптимальные условия культивирования продуцента, при которых достигается максимальная продукция и активность фермента в культуральной жидкости.

Теоретически обосновано и практически реализовано применение модифицированного метода определения активности L-лизин- $\alpha$ -оксидазы с использованием не канцерогенного реактива тетраметилбензидина. Данный метод в представленной модификации обладает более высокой чувствительностью, является более безопасным для оператора и не требует специальной квалификации персонала.

Автором показана перспективность дальнейшего изучения фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы как фармацевтического препарата с противомикробным



действием, обладающего низкой аллергенностью и способного ингибировать процесс биопленкообразования.

Результаты диссертационного исследования используются в учебно-методическом процессе кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко МИ РУДН при подготовке студентов по специальности «Лечебное дело», «Стоматология», «Фармация» в рамках дисциплин: «Микробиология, вирусология», «Микробиология, включая микробиологию и вирусологию полости рта», «Микробиология» соответственно.

### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

Достоверность результатов, полученных А.Н. Сенягиным, подтверждена использованием в работе современных микробиологических, биохимических, микроскопических, культуромных и статистических методов исследования, адекватных задачам, а также контрольных референс-штаммов микроорганизмов и достаточной повторностью в экспериментальной части с соответствующей статистической обработкой.

Диссертантом опубликовано 9 научных работ, из них 5 – в материалах конференций и 4 в рецензируемых научных изданиях.

Диссертация апробирована на заседании кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (выписка из протокола № 030017-04/05 от 05.12.2024 года).

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Улучшенный метод определения фермента L-лизин- $\alpha$ -оксидазы рекомендуется к внедрению и использованию в условиях микробиологической лаборатории при биотехнологическом производстве для

обеспечения биологической безопасности оператора в ходе подготовки посевного инокулята, процессе ферментации и/или поиске новых продуцентов данного фермента. Полученные данные об антагонистической активности L-лизин- $\alpha$ -оксидазы в отношении прокариот и влияния на процессы биопленкообразования рекомендуются для использования при разработке антибактериальных препаратов или композитных материалов

### **Соответствие паспорту специальности**

Тема диссертации, цели, задачи, основные положения и выводы, сформулированные автором, соответствуют паспорту специальности 1.5.11 – Микробиология.

### **Оценка содержания и оформления диссертации**

Диссертация изложена на 167 страницах машинописного текста и иллюстрирована 16 таблицами и 39 рисунками и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, семи глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективной дальнейшей разработки, списка сокращений, списка литературы (202 источника, из них 10 – отечественных, 192 – зарубежных).

Содержание работы соответствует поставленной цели, выводы – задачам исследования. В заключительной части диссертации автор обосновывает грамотно обосновывает практические рекомендации и перспективы дальнейшего исследования – тестирование L-лизин- $\alpha$ -оксидазы в различных моделях инфекционных и онкологических заболеваний для подтверждения его терапевтической эффективности и определения оптимальных дозировок, изучение молекулярных механизмов, посредством которых данный фермент препятствует образованию микробных биопленок, что может привести к разработке новых метаболитов или комбинаций препаратов.

Автореферат соответствует структуре и содержанию диссертации и оформлен согласно требованиям ВАК.



Принципиальных замечаний к работе нет, но есть ряд вопросов дискуссионного характера:

1. Как Вы относитесь к механизму действия исследуемой антимикробной субстанции в плане возможности усиления её активности какими-либо путями? Может быть с учётом данных литературы.
2. Чем Вы можете объяснить структурные дефекты клеточных стенок синегнойной палочки в биоплёнке при воздействии L-лизин- $\alpha$ -оксидазы?
3. От чего зависят разные варианты выявленного в Вашей работе воздействия на биоплёнки различных видов?

Сделанные замечания не затрагивают основного содержания рассматриваемой диссертации и не влияют на общую высокую оценку научного уровня и выполненной диссертантом работы.

Отзыв о диссертации Сенягина Александра Николаевича обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Научно-образовательного института фундаментальной медицины им. В.И. Покровского и лаборатории молекулярно-биологических исследований НИЦ фундаментальных исследований «НИМСИ» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол № 3 от 21 марта 2025 г.).


### Заключение

Диссертационная работа Сенягина Александра Николаевича на тему: «Исследование антагонистического действия L-лизин- $\alpha$ -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai на условно – патогенные и непатогенные микроорганизмы», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология, выполненная под руководством кандидата медицинских наук, доцента Подопригора Ирины Викторовны, является завершённой научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной

работой и содержит новое решение актуальной задачи – альтернативное классической антибиотикотерапии решение вопроса преодоления антибиотико-резистентности у инфекционных агентов бактериальной природы. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Сенягина Александра Николаевича отвечает требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 28.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Сенягин Александр Николаевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология.

Отзыв составил:

Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, профессор, доктор медицинских наук (1.5.11. Микробиология), федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Минздрава России

 Царев Виктор Николаевич

Подпись профессора Царева В.Н. заверяю.

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Минздрава России,

Заслуженный работник высшей школы РФ  
доктор медицинских наук, профессор  Васок Юрий Александрович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес организации: 127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, д.4  
+7 (495) 609-67-00; e-mail: [mail@msmsu.ru](mailto:mail@msmsu.ru), [rosunimed.ru](http://rosunimed.ru)

24.03.2025