

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Ткаченко
Александра Георгиевича**

**на диссертационную работу Абдулкадиевой Марьям Махдиевны на тему
«Анализ и потенциал использования паттернов приповерхностного движения
бактерий в микрофлюидических системах», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология
(биологические науки)**

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Абдулкадиевой М. М. посвящена развитию новой отрасли науки, стоящей на стыке микробиологии, физики и математического моделирования коллективного поведения бактериальных клеток в условиях первичного расселения, адгезии, колонизация и инвазии в эукариотические клетки. Перемещение бактерий в приповерхностных областях смоделировано при помощи микрофлюидической системы, где поведение микроорганизмов представлено в соответствии с физическими законами, действующими в отношении броуновского движения частиц. Однако способность бактерий к активному движению значительно усложняет описание закономерностей их движения и обуславливает необходимость изучения паттернов приповерхностного движения, которое составляет основную цель рассматриваемой диссертационной работы. В процессе выполнения работы охарактеризованы типы взаимодействия органов движения бактерий с эукариотическими клетками, способствующие формированию специфических механосенсорных сигналов, которые участвуют в формировании поведенческих реакций и влияют на уровень вирулентности. В связи с этим, создание микрофлюидических систем для изучения закономерностей приповерхностного движения бактерий представляет собой одно из наиболее актуальных направлений микробиологической науки.

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

Диссертационная работа представляет собой последовательное и законченное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Логика изложения результатов и структурированность текста свидетельствуют о целостности и аргументированности основных положений диссертационной работы.

Экспериментальный материал подкреплён теоретическими основами, подробно изложенными в обзоре литературы, где приводятся обоснования избранного направления исследования. В работе использован широкий арсенал математических, бактериологических, культуральных, микроскопических, иммуноферментных и других методов исследования. Соискателем грамотно применены методы статистической обработки данных, достоверность и репрезентативность которых подтверждается достаточным количеством повторных экспериментов, а также соответствием методов поставленным целям и задачам исследования. Особо следует отметить использование большого разнообразия штаммов микроорганизмов, различающихся поведенческими типами перемещения в глубинных и приповерхностных слоях микрофлюидической камеры, а также различающихся по признакам адгезивности и патогенности. Это способствовало объективному описанию различных паттернов приповерхностного движения бактерий в микрофлюидической системе и дало возможность провести обоснованный анализ потенциала их использования.

Выводы работы логически вытекают из представленных данных и результатов исследования. Предложенные рекомендации подкреплены обоснованными выводами и представляют собой логическое продолжение исследований. Автор учитывает практические аспекты внедрения результатов и даёт конструктивные предложения для дальнейших исследований и перспективы практического применения. Это, прежде всего, касается использования разработанной автором модели и алгоритма исследования для экспрессного анализа мутационных процессов, приводящих к формированию антибиотикорезистентности. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подчёркивает высокий уровень научной компетенции исследователя и значимость данной работы.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна и оригинальность данной работы определяется сравнительным изучением паттернов приповерхностного движения и их связи с адгезией и инвазией патогенных бактерий в сравнении с непатогенными.

Впервые проведен математический анализ траекторий движения бактерий и установлена связь его особенностей с эффективностью адгезии. Показано, что направленное, преимущественно горизонтальное, движение пробиотического сапрофитного штамма *E. coli* M17 в приповерхностном слое сопровождается повышением колонизации биотической поверхности. В отличие от этого, для энтерогеморрагического

штамма *E. coli* ATCC43890 преобладающим является перемещение в вертикальной плоскости, что дает ему преимущество для эффективного поиска рецепторов на поверхности эукариотических клеток и реализации патогенных свойств.

С помощью оригинального подхода, использованного автором для восстановления утраченной при температуре 37° С двигательной способности патогенных листерий, автору впервые удалось показать прямую корреляцию подвижности патогенного штамма *L. monocytogenes*, с образованием скоплений бактерий в области межклеточных контактов, то есть в зоне повышенной концентрации рецепторов E-кадгерина и C-Met, что способствует возрастанию эффективности инвазии в 8 раз.

Автором впервые показано, что разработки, полученные в процессе проведения исследований, могут быть использованы для практических целей прогнозирования уровня антибиотикочувствительности исследуемых микроорганизмов по характерным изменениям средней скорости движения, средней длины траекторий и распределения мгновенных скоростей, что в перспективе может быть использовано в медицинской практике.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Работа представляет значительный интерес для теоретической области микробиологии, внося значительный вклад в понимание механизма формирования поведенческих реакций микроорганизмов в биологических жидкостях, в особенности предповерхностного движения патогенных бактерий в сравнении с непатогенными в процессе расселения, колонизации, адгезии и инвазии эукариотических клеток патогенными бактериями.

Характеризуя достоинства диссертационной работы, следует подчеркнуть, что она является хорошим примером междисциплинарного исследования, сочетающего в себе принципы микробиологии с основами физики и математического моделирования. Важность диссертационного исследования и практическая ценность полученных результатов подтверждается их соответствием приоритетному направлению, установленному Стратегией научно-технологического развития РФ (пункт в): «переход к персонифицированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных)».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.11 Микробиология. Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 5 и 12 паспорта специальности «Микробиология».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Основные положения диссертации изложены автором в 9 печатных работах, из них 1 статья в журнале базы данных РИНЦ, 2 статьи в рецензируемых журналах Scopus/WoS и рекомендованных ВАК для публикации к защите, все - по результатам экспериментальных исследований, 6 тезисов в сборнике трудов конференции, из них 1 в международном.

Результаты представлены и обсуждены на многочисленных научных мероприятиях, что дополнительно свидетельствует об их корректности. Обоснованность выводов, сделанных в работе, подтверждается публикациями в периодической печати, в том числе в высокорейтинговых научных журналах.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста, включает разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, список литературы (214 источников, из которых отечественных публикаций – 1, иностранных публикаций – 213). Работа содержит 5 таблиц и 32 рисунка. Содержание диссертации объективно освещает все экспериментальные данные, их обоснование и выводы и полностью соответствуют данным, представленным в публикациях.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат в целом адекватно отражает основные положения диссертации. Структура автореферата и представленные в нем в краткой форме результаты проведенных автором исследований, их интерпретация и выводы, соответствуют основным положениям диссертации.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты диссертационной работы могут быть использованы в практической медицине для экспресс-диагностики антибиотикорезистентных форм микроорганизмов, а также для улучшения терапии бактериальных инфекций.

Материалы диссертации могут быть рекомендованы для преподавания физиологических аспектов микробиологии, освещающих закономерности движения и поведенческие реакции бактерий в процессе расселения, адгезии и инвазии эукариотических клеток.

Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе

Замечания:

1. Использование сахарозы в концентрации 0,5-2 М в качестве средства для изучения влияния вязкости среды на скорость движения бактерий кажется не полностью оправданным по следующим причинам: а) сахароза как источник углерода и энергии, в высоких концентрациях приводит к изменению типа метаболизма бактерий, в том числе листерий, с аэробного на бродильный; б) в клетках формируется сильный осмотический стресс, сопровождающийся падением тургорного давления и снижением функциональной активности мембраны. В обоих случаях возможны изменения энергетического обмена клеток, способные отрицательно повлиять на скорость их передвижения и выраженность эффекта вязкости среды. Поэтому оптимальным для повышения вязкости среды все же является использование инертных соединений, не оказывающих влияния на метаболические функции бактерий.

2. Для объяснения прямой зависимости скорости движения бактерий в вязком растворе от концентрации клеток в работе использована гипотетическая концепция «кильватерного следа». Однако прямая зависимость скорости движения бактериальных клеток от их концентрации наблюдалась только в средах содержащих 2 М сахарозы и отсутствовала в PBS буфере и в присутствии метилцеллюлозы как соединения, повышающего вязкость среды. Одним из объяснений этого явления могла бы быть утилизация сахарозы клетками как субстрата в метаболизме бактерий с образованием менее вязких продуктов ее расщепления.

Вопросы:

1. Наблюдаемое движение жидкости в микрофлюидной камере – это самопроизвольный процесс или его скорость можно регулировать принудительно? Какой количественный критерий соответствует использованной автором в диссертации оценке скорости потока: «быстрый», «медленный» и от чего он зависит?

2. Существуют ли данные (полученные вами или опубликованные в литературе), характеризующие условия по содержанию растворенного кислорода в среде микрофлюидической камеры, в частности, в глубинном и приповерхностном слоях? Это особенно важно в связи с использованием для изучения движения бактериальных культур высокой плотности, быстро потребляющих кислород. Могла ли неравномерность условий

по этому параметру избирательно повлиять на скорость перемещения бактерий в разных локациях камеры, например, как результат изменения метаболизма?

3. Для характеристики приповерхностного движения в микрофлюидической системе используются культуры высокой плотности ($2,0 \cdot 10^9$ клеток/мл), соответствующие приблизительно плотности периодических культур бактерий при переходе в стационарную фазу. Не создаются ли при этом в микрофлюидной камере условия для формирования стрессов, характерных для данной фазы: голодание, кислотный, окислительный и другие виды стресса и не могли ли они повлиять на физиологические характеристики клеток, включая подвижность?

4. Характеристика перемещения штамма *E. coli* ATCC43890 как вертикальное основана на оценке «времени, проведенном отдельной бактерией в наблюдаемом слое жидкости» как самом коротком среди всех изучаемых штаммов. Эта интерпретация высказана автором как предположение. Существует ли другие объективные критерии, для регистрации вертикального перемещения клеток данного штамма в микрофлюидной камере?

Следует отметить, что данные вопросы и замечания носят уточняющий, рекомендательный характер и не снижает научной и практической значимости работы.

Заключение

Диссертационная работа Абдулкадиевой М.М. на тему «Анализ и потенциал использования паттернов приповерхностного движения бактерий в микрофлюидических системах», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (Биологические науки), выполненная под руководством научного руководителя кандидата биологических наук, Сысолятиной Елены Владимировны и научного консультанта доктора химических наук Станишевского Ярослава Михайловича является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальных научных задач по разработке системы для экспресс-оценки антибиотикочувствительности *L. monocytogenes* и на примере чувствительных и устойчивых к гентамицину штаммов *P. aeruginosa*. Таким образом, диссертационная работа Абдулкадиевой М.М. «Анализ и потенциал использования паттернов приповерхностного движения бактерий в микрофлюидических системах» по своей актуальности, новизне и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным

Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 и последующих редакций Постановлений Правительства РФ (№335 от 21.04.2016; №748 от 02.08.2016; №1024 от 28.08.2016; 1168 от 01.10.2018; №426 от 20.03.2021; 1539 от 11.09.2021; №1690 от 26.09.2022; от 26.01.2023 N 101; от 18.03.2023 № 415; от 26.10.2023 №1786), а ее автор Абдулкадиева Марьям Махдиевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5. 11. Микробиология (биологические науки).

Отзыв подготовил заведующий
лабораторией адаптации
микроорганизмов
Института экологии и генетики
микроорганизмов Пермского
федерального исследовательского
центра Уральского отделения
Российской академии наук,
доктор медицинских наук
(03.02.03 – Микробиология,
03.01.04 – Биохимия), профессор



Ткаченко Александр Георгиевич

«10» сентября 2025 г.

Подпись А.Г. Ткаченко заверяю
Директор ИЭГМ УрО РАН, 

Гейн С. В.

«10» сентября 2025 г.



«Институт экологии и генетики
микроорганизмов Уральского отделения
Российской академии наук» - филиал
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Пермского федерального
исследовательского центра Уральского
отделения Российской академии наук («ИЭГМ
УрО РАН»)

Юридический адрес: 614081 Пермский Край,
г. Пермь, ул. Голева, д.13

Телефон: +7(342)280-74-42

Факс: 280-92-11

E-mail: info@iegm.ru