

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
РЕАНИМАТОЛОГИИ И
РЕАБИЛИТОЛОГИИ»
(ФНКЦ РР)**

107031, г. Москва, ул. Петровка, д.25, стр.2

тел: 8 (495) 641-30-06

e-mail: fnkerr@fnkerr.ru

ОКПО 18651755 ОГРН 1137746925337

ИНН 7709938054 КПП 770701001

06.09.2024 № 427/ 961-06

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Федеральный научно-клинический
центр реаниматологии и
реабилитологии» (ФНКЦ РР),
Член-корреспондент РАН
А. В. Гречко
09. 2024 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации

на диссертационную работу Савина Никиты Александровича
«Воздействие тиазолидиндионов на рельеф поверхности и механические свойства
клеточной стенки дрожжевых грибов рода *Candida*», представленную
на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук
по специальности 1.5.2. «Биофизика»

Актуальность темы диссертации

Современные методы микроскопии позволяют изучать наноразмерные структуры микроорганизмов. Однако не все из них могут одновременно оценивать топографию и механические свойства в физиологических растворах. Сканирующая ион-проводящая микроскопия (СИПМ) обеспечивает визуализацию поверхностных структур биологических образцов в нативной среде без фиксации и без контакта зонда с образцом. СИПМ имеет преимущества перед атомно-силовой микроскопией, такие как отсутствие боковых сил воздействия зонда на образец и уменьшение артефактов измерений. Актуальность темы диссертационного исследования Савина Н.А. заключается в использовании данного метода для оценки функциональных свойств клеток.

В диссертационной работе Савина Н.А. изучены возбудители *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* и *Candida krusei*, включенные

в приоритетный список ВОЗ, а также рост резистентности патогенных штаммов к противогрибковым препаратам. Для демонстрации возможностей СИПМ были исследованы азольные и эхинокандиновые препараты, включая их гибриды. Метод СИПМ позволяет оценивать изменения структуры клеточной стенки и поверхностных полисахаридов, предоставляя данные для качественной и количественной оценки эффективности препаратов, что важно для разработки новых противогрибковых и противоопухолевых средств

Основная цель исследования – изучение топографии и механических свойств дрожжевых грибов рода *Candida* под воздействием противогрибковых препаратов с использованием методики СИПМ. Таким образом, полученные данные позволят более точно оценить эффективность лекарственных препаратов, что является важным для разработки новых методов лечения грибковых и других инфекций.

Научная новизна работы

Диссертационное исследование Савина Н.А. насыщено большим количеством оригинальных экспериментальных данных, на основе которых показан патогенетический механизм нарушения структуры клеточной стенки дрожжей рода *Candida*.

Новизна исследований, представленных в работе, заключается в выявлении закономерностей структурных изменений дрожжей рода *Candida* вызванных разработанными веществами, находящимися в стадии доклинических испытаний.

Установлено, что гибриды тиазолидиндионов приводят к одновременному лизису клеточной стенки и приводят к разрушению полисахаридов на ее поверхности. Наиболее эффективные препараты, приводящие к наибольшему разрушению клеточной стенки, являются вещества L-173, L-273 и L-274. При этом их фунгицидный потенциал превосходит аналогичный у клинических препаратов, применяющихся в терапии, при равных условиях.

Кроме того, автором предложена новая математическая модель, основанная на положении о расклинивающем давлении, при помощи которой был оценен

модуль Юнга участков клетки, подвергшихся изменению. А также разработана и успешно применена методика сканирования биологических объектов, обладающих клеточной стенкой, без применения фиксаторов или сушки клеток на субстрате методом сканирующей ион-проводящей микроскопии.

Практическая значимость работы

С помощью разработанной методики сканирующей ион-проводящей микроскопии (СИПМ) автором были получены данные о структуре и механических свойствах поверхностной части дрожжей в жидкой среде без использования химической фиксации.

Предложены оптимальные концентрации противогрибковых веществ, находящихся на стадии разработки.

Полученные результаты используются в проектах, таких как Федеральная программа «Приоритет 2030» и проект «Биомедицинские материалы и биоинженерия», направленных на разработку новых противогрибковых препаратов. Практическая значимость подтверждена внедрением методики в ООО «Дермавитал Групп» для изучения структуры дрожжей под воздействием инновационных препаратов.

Достоверность

Достоверность диссертационного исследования определяется достаточным количеством экспериментальных данных, полученных с использованием современного научно-исследовательского и технологического оборудования, применением статистического анализа при обработке полученных результатов и отсутствием противоречий с имеющимися результатами изучения структур дрожжей рода *Candida* зарубежных и отечественных исследователей.

Экспериментальные данные диссертации базируются на больших объемах выборки, что позволяет автору достоверно получать и интерпретировать результаты. Результаты исследований опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в базах Web of Science или Scopus.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы не вызывает сомнений, они не противоречат друг другу и составлены, следуя принципам научного исследования.

Оформление и содержание работы

Диссертационная работа написана по классическому принципу, изложена на 175 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, их обсуждения, заключения, библиографии и приложений. Работа содержит обширный иллюстрированный материал: 7 таблиц, 57 рисунков. Список литературы включает 153 источника.

Все выводы диссертации обоснованы и четко сформулированы и вытекают из результатов, полученных в данной работе.

В автореферате и опубликованных работах полностью отражены основные положения и содержание диссертации.

Соответствие работы критериям, предъявляемым к диссертациям

Рассмотренная диссертационная работа Савина Н.А. представляет оригинальное научное исследование. Материалы диссертации докладывались на отечественных и международных научных конференциях. Выводы и рекомендации обоснованы и опираются на теоретические представления и экспериментальные данные.

Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты. На основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в сфере биофизики.

Автореферат диссертации корректно отражает содержание работы. Диссертационная работа написана в хорошем стиле с большим количеством

графических материалов, описывающих результат работы. Содержание работы соответствует поставленной цели, все поставленные задачи в работе выполнены.

Диссертационная работа Савина Н.А. соответствует паспорту специальности 1.5.2. «Биофизика» и отвечает критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней согласно постановлению Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней».

Рекомендации по практическому использованию результатов и выводов

Полученные при проведении исследований методики и результаты могут быть рекомендованы для практического применения организациям, специализирующихся на разработке и производстве научного оборудования для нанотехнологических исследований, в частности сканирующих зондовых микроскопов (ООО «НТ-МДТ», ООО «Группа Ай-Эм Си», «Нано Скан Технология» и другим), а также учреждениям специализирующихся на разработке противогрибковых препаратов (АО «ПФК Обновление», АО «ВЕРТЕКС», ООО «Замбон Фарма» и прочие).

Замечания по работе

При знакомстве с диссертацией возник ряд вопросов, которые задаются только с целью научной дискуссии:

1. Стр. 41 «Так для метода ПЭМ биологические образцы должны быть тоньше 100 нм [113] и для методов КМ составляет до 20 нм [114]».

В тексте диссертант пишет о толщине образца для конфокальной микроскопии. Есть ли работы, в которых для КМ использовали бы образцы толщиной меньше 20 нм? Скорее всего путаются понятия, ссылка 114 указывает на глубину резкости изображения. Глубина визуализации не равна толщине образца.

2. Сканирующая щелевая конфокальная микроскопия стр. 37. Поясните, пожалуйста, термин щелевая.

3. В тексте диссертант пишет о низких возвышениях (стр. 65 «обнаружены низкие возвышения у клеточной стенки»). Хотелось бы уточнить какой диапазон высот подразумевается для низких и высоких возвышений.

4. Как вы оцениваете тонкие структуры цитоскелета дрожжевой клетки, если данная клетка покрыта оболочкой, толщина которой составляет примерно 200нм. И если вы ее убираете, то как проверялось отсутствие оболочки?

В качестве замечаний, не умаляющих значимости полученных результатов:

1. В работе только одна ссылка на отечественную публикацию, учебное пособие [127].

2. Стр. 84 «Влияние противомикробных препаратов на клетки млекопитающих»

В работе вы пишете, что исследовались клетки млекопитающих. А у вас описаны только клетки человека, других млекопитающих кроме человека у вас в работе нет. Следовательно, желательно конкретно писать, что клетки человека.

Заключение

Диссертационная работа Савина Никиты Александровича на тему: «Воздействие тиазолидиндионов на рельеф поверхности и механические свойства клеточной стенки дрожжевых грибов рода *Candida*», представленная на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором на основании выполненных автором исследований предложены новые подходы к оценке физических параметров клеточной стенки дрожжей на основе методов сканирующей ион-проводящей микроскопии.

Диссертация Савина Н.А. по актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней в НИТУ МИСИС», а соискатель Савин Никита Александрович заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. «Биофизика».

Диссертация и отзыв обсуждены на расширенном заседании лаборатории биофизики мембран клеток при критических состояниях Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии «2» сентября 2024 г., протокол заседания № 1.

Заведующий лабораторией биофизики мембран
клеток при критических состояниях
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Федеральный научно-клинический
центр реаниматологии и реабилитологии»,

к.б.н., (14.03.03 (14.00.16) – патологическая физиология)



В.А. Сергунова

Подпись В.А. Сергуновой ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь ФНКЦ РР, к.м.н.




Е.В. Лугинина

" 5 " 09 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» (ФНКЦ РР); 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2; тел.: 8 (495) 641-30-06; www.fnkcr.ru; e-mail: fnkcr@fnkcr.ru