

В диссертационный совет ПДС 0300.010
при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»
Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

Отзыв

**на автореферат диссертации Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази
на тему «Изучение механизмов токсичности и клеточной гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, вызванных новыми и классическими противогрибковыми препаратами»,
представленную на соискание степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.11 Микробиология**

Патогенные грибы представляют серьёзную угрозу для здоровья человека, животных и растений, вызывая эпидемии и значительные экономические потери, особенно в сельском хозяйстве. Многие виды грибов способны инфицировать позвоночных, включая человека, что ежегодно приводит к высоким показателям смертности от микозов.

Современная терапия грибковых инфекций сталкивается с серьёзными трудностями, обусловленными ограниченным числом классов антимикотических препаратов и нарастающей устойчивостью патогенов. Эти факторы способствуют увеличению продолжительности лечения, снижению его эффективности и повышению уровня летальности.

Диссертационное исследование Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази посвящено решению актуальной задачи - разработке нового подхода к исследованию клеточного ответа грибов на антимикотики. Структура работы выстроена последовательно и логично. Автореферат диссертации содержит все необходимые разделы и характеризуется четкостью формулировок цели, задач и результатов.

В исследовании охвачен широкий спектр противогрибковых препаратов и химических соединений: как известные противогрибковые вещества, так и вновь синтезированные соединения, предположительно обладающие противогрибковым эффектом, включая азолы, полиены, N4-алкиловые цитидины (Ala-54, SOV4 и SOV8), ионофоры меди (2-меркаптопиридин-N-оксид (MP) и соединение 11326083), туникамицин, микозидин и их производные. Для исследования их влияния на клеточные процессы были выбраны белки, играющие ключевую роль в биосинтезе и катаболизме аминокислот, репарации ДНК, углеводном обмене, биосинтезе липидов, реакции на окислительный стресс и активации термотолерантности и покоя. Такой комплексный подход позволил глубоко изучить клеточные реакции на стресс и механизмы действия противогрибковых соединений.

Особый интерес представляют исследования новых соединений, вызывающих металл-зависимые нарушения, таких как 2-меркаптопиридин-N-оксид (MP) и соединение

11326083. Автор обнаружил, что они вызывают выраженный ($p < 0,05$) окислительный и протеотоксический стресс, что подтверждается значительным увеличением уровней белков Ahp1, Sod1, Trx2 и Ssa4. Одним из важных наблюдений стало снижение уровня Lys1, которое оказалось уникальным для этих соединений. Данные результаты имеют большое значение для понимания механизмов токсичности и потенциального использования этих соединений в медицине или биотехнологии.

Интерес представляют также исследования воздействия туникамицина, известного ингибитора гликозилирования. Автор показал, что туникамицин вызывает значительное ($p < 0,05$) повышение уровней белков Pmi40 и Pre4, участвующих в процессах гликозилирования и деградации неправильно свернутых белков. Индукция белков Ydj1 и Tsa1 подтверждает, что туникамицин вызывает стресс, связанный с нарушением сворачивания белков в эндоплазматическом ретикулуме. Эти данные могут иметь значение для понимания механизмов клеточного ответа на нарушение процессов гликозилирования, что важно не только для микробиологии, но и для медицинских исследований, связанных с протеинопатиями и заболеваниями, связанными с накоплением неправильно свернутых белков.

Одним из ключевых методологических достижений работы является применение SCRAPPY – инновационного метода анализа клеточных эффектов в ответ на воздействие химических соединений. Этот метод позволил выявить специфические клеточные реакции на воздействия N4-алкил-цитидинов (Ala-54, SOV4 и SOV8).

Следует также отметить, что в диссертационной работе была разработана быстрая методика для анализа реакции грибковых клеток на противогрибковые агенты с использованием генетически модифицированных штаммов дрожжей, что представляется бесспорным достижением.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты могут быть использованы для разработки новых терапевтических стратегий борьбы с грибковыми инфекциями. В частности, выявленные механизмы устойчивости к азолам позволяют предложить новые подходы к повышению их эффективности, например, за счет комбинированного применения с ингибиторами эффлюксных насосов. Кроме того, исследование новых соединений, вызывающих окислительный стресс и нарушение метаболических процессов в клетке, может послужить основой для разработки противогрибковых агентов с принципиально новым механизмом действия.

Замечания к содержанию и оформлению автореферата отсутствуют. Отдельно хотелось бы отметить, что автореферат написан литературным русским языком, что делает честь его автору.

Заключение

В целом, ознакомление с авторефератом позволяет сделать вывод, что диссертационная работа Ореиф Эслам Ш. М. Г. на тему «Изучение механизмов токсичности и клеточной гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, вызванных новыми и

классическими противогрибковыми препаратами» выполнена на высоком научном уровне, представляет собой самостоятельное завершённое исследование, в котором содержится решение научной задачи изучения новых веществ с антимикотической активностью. Эта задача обладает критической важностью для микробиологии (биологические науки). Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН, протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а его автор, Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии
имени академика Е.И. Чазова»,
Институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Профессор. д.б.н.

Ольга Олеговна Фаворова

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями. Приказа Минобрнауки России № 662 от 1 июля 2015 года), необходимых для работы диссертационного совета ПДС 0300.010.

4 февраля 2025 г

О.О. Фаворова

Контактная информация:

Адрес: 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, д. 15А

Телефон: +7 916 6579589

E-mail: olga_favorova@mail.ru

Подпись О.О. Фаворовой заверяю.

Ученый секретарь ИЭК имени академика В.Н. Смирнова

ФГБУ «НМИЦ кардиологии» имени академика Е.И. Чазова

Минздрава России

д.м.н. Ольга Сергеевна Плеханова

4

февраля 2025 г



Отзыв

на автореферат диссертации Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази

на тему: «Изучение механизмов токсичности и клеточной гибели дрожжей *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, вызванных новыми и классическими противогрибковыми препаратами», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.11 «Микробиология»

Растущий уровень заболеваемости микозами во всем мире (ежегодно от инфекций, вызванных патогенными грибами, умирает более 1,5 млн человек), и одновременная эволюция штаммов патогенных грибов, повышающая их резистентность к существующим антимикотикам, представляют серьезную угрозу для человека. Потребность в новых антифунгальных препаратах, обеспечивающих высококачественные методы лечения микозов, с каждым годом возрастает. Актуальность и важность задачи поиска новых антимикотиков и изучения механизма их действия несомненны. Целью данной работы является разработка нового подхода к анализу ответа клеток грибов на воздействие новых препаратов в сравнении с действием классических.

Задачи диссертации заключались,

во-первых, в формировании коллекции подготовленных к использованию в протеомном тесте штаммов дрожжевого гриба *S. cerevisiae*, позволяющих изучать реакцию внутриклеточных систем на разных стадиях клеточного цикла микроорганизма - индикатора на воздействие ряда антимикотиков;

во-вторых, в применении данной коллекции для использования метода проточной цитометрии в анализе клеточных ответов штаммов индикатора на вещества с антимикотической активностью, механизм действия которых неизвестен, в сравнении с веществами с уже изученным механизмом действия;

в-третьих, в изучении особенностей чувствительности штаммов дрожжей с нелетальными нарушениями биосинтеза эргостерола к полиенам и их новым амидам;

в-четвертых, в исследовании действия натамицина и его новых производных на клетки микроорганизма- индикатора.

Рассмотренная тематика представляет интерес для специалистов в области биологии, медицины, аграрной сферы. В работе четко выделены предмет и объект исследования. Цель работы достигнута, задачи выполнены. Использованы современные методы микробиологии (культуральные, микроскопические), молекулярной биологии, биохимии.

В данном объемном исследовании была разработана экспресс - методика (SCRAPPY) анализа реакции отдельных клеток грибов на антимикотики с использованием коллекции генетически измененных штаммов дрожжевого гриба. Новый подход основан на применении метода проточной цитометрии для анализа изменений экспрессии большого набора

из 64 белков, конъюгированных с зеленым флуоресцентным белком. Полученные результаты исследования 12 веществ - антимикотиков с установленным и неизвестным механизмом действия показывают, что новизна и практическая значимость выполненной работы в быстроте и экономичности разработанного теста: (5-6) часов работы одного исполнителя.

Достоинством работы служит также получение новых данных о механизме действия ряда соединений, таких как, микозидин, (препарат, одобренный МЗ РФ для наружного применения); натамицин (уже используемый в медицине и пищевой промышленности).

В качестве замечания: неправомерное употребление термина «грибковые», например, в составе «грибковые инфекции», «грибковые клетки». Следует писать: инфекции, вызванные патогенными грибами; клетки гриба. В то же время считаю допустимым использование термина в устойчивом сочетании: противогрибковый препарат (агент), противогрибковая активность, противогрибковое свойство и т.д.

Заключение. Диссертационная работа Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель присуждения искомой ученой степени по специальности 1.5.11 «Микробиология».

Вед. науч. сотр. лаб. иммунологической диагностики
эндокринных заболеваний, к.б.н.

по специальности 03.00.07 «Микробиология» _____ Л.Г. Бутова

Адрес: 105064, Россия, г. Москва, Малый Казенный переулок, 5а

e.mail: blg-snegiri@yandex.ru

раб. 8(495)917-52-42 моб. +7 906 704 78 82

Даю своё согласие на обработку моих персональных данных

04 февраля 2025 года

_____ Л.Г. Бутова

Подпись Бутовой Л. Г. заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова _____ А.В. Васильева



Отзыв на автореферат

диссертации Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази
«Изучение механизмов токсичности и клеточной гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, вызванных новыми и классическими противогрибковыми препаратами»
на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11 – микробиология

Целью диссертационного исследования явилась разработка высокоэффективного метода получения характеристик ответа клеток грибов на воздействие веществ с антифунгальной активностью и применение этого метода для характеристики и сравнения механизмов действия известных и новых видов антимикотиков на клетки дрожжей. Помимо основной цели, в рамках работы также было запланировано охарактеризовать ряд новых полиеновых антимикотиков с точки зрения их эффективности против дрожжей с нарушениями пути биосинтеза эргостерола и клеточной гибели. В ходе работы автором был разработан новый метод анализ клеточного цикла клеток *S. cerevisiae* SCRAPPY (Single Cell Rapid Assay of Proteome Perturbation in Yeast), позволяющий определить изменения протеома на уровне отдельных дрожжевых клеток. Экспериментальный материал, изложенный в автореферате, достаточно убедителен для тех выводов, которые делает автор в своей работе. Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием комплекса современных методов микробиологии, молекулярной биологии, генетики и биоинформатики. Работа актуальна и ее результаты имеют большой научный интерес.

Диссертационное исследование отличается высоким уровнем научной новизны и практической значимости. Результаты исследования опубликованы в шести статьях, индексирующихся в международных базах данных Scopus и WoS. Материалы диссертации были представлены на различных российских и международных конференциях.

Автореферат соответствует всем требованиям к научным работам, а автор демонстрирует высокий уровень подготовки и владения современными методами анализа. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а его автор, Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Я, Журавлева Галина Анатольевна, согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями приказа Минобрнауки России № 662 от 1 июля 2015 года), необходимых для работы диссертационного совета ПДС 0300.010.

Рецензент

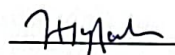
доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры генетики и биотехнологии

Санкт-Петербургского государственного университета, <https://spbu.ru/>

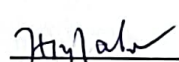
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

тел.+79119384080; 7(812)3210405

E-mail zhuravleva@rambler.ru; g.zhuravleva@spbu.ru

 Журавлева Г.А.

Согласна на обработку моих персональных данных
«3» февраля 2025 г.

 Журавлева Г.А.

Подпись Г.А.Журавлевой заверяю

«03» 02 2025 г.





ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази на тему «Изучение механизмов токсичности и клеточной гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, вызванных новыми и классическими противогрибковыми препаратами», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Диссертационная работа Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази посвящена разработке нового подхода к анализу ответа клеток грибов на воздействие веществ с антимикотической активностью. Проблема решения лечения микотических инфекций в настоящее время остается актуальной. Работа Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази направлена на решение практических задач, связанных с созданием новых антимикотиков и с устойчивостью микроорганизмов к антифунгальным препаратам.

В результате работы впервые были получены сведения о механизмах действия ряда антимикотиков, в частности, впервые получены данные о реакции клеток грибов на тиазолидиновый антимикотик микозидин, который одобрен Минздравом РФ для наружного применения. Разработан новый метод анализ клеточного цикла клеток *S. cerevisiae* при мониторинге флуоресцентного сигнала GFP слитого с гистоном Htb2. Разработанный метод отличается масштабностью, быстротой проведения и экономичностью теста - метод позволяет в течение короткого времени получить протеомный профиль клеточного ответа на широкий спектр химических веществ, что делает его удобным для масштабного тестирования различных условий применения антифунгальных препаратов. Количественные и воспроизводимые результаты для изменения уровня белка в ответ на действие одного вещества (или ряда веществ) могут быть получены за 5-6 часов и требуют работы одного человека.

В работе были использованы современные методы исследования - микробиологические, молекулярно-генетические методы, а также методы биоинформатического анализа. Полученные экспериментальные данные обработаны статистическими методами анализа.

На основании автореферата Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази можно заключить о завершенности и логичной последовательности научных изысканий, актуальность, а также научная новизна полученных результатов не вызывают сомнений, экспериментальные данные эффективно интерпретированы и на их основе сделаны обоснованные выводы. Выводы соответствуют поставленным задачам.

По теме диссертации опубликованы 12 научных работ, из них 6 статей в журналах категории Q1, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и WoS, результаты работы апробированы на научно-практических конференциях и форумах.

По теме диссертации опубликованы 12 научных работ, из них 6 статей в журналах категории Q1, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и WoS, результаты работы апробированы на научно-практических конференциях и форумах.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2. раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Начальник отдела организационно-нормативного
регулирования лабораторной деятельности
Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Центр ветеринарии»,
кандидат биологических наук



Шурахова Юлия Николаевна

«13» февраля 2025 года

Юр. адрес: 129344, г. Москва,
вн.тер.г. муниципальный округ Бабушкинский,
ул. Летчика Бабушкина, д.20
E-mail: fgbu@vet-center.ru
Тел. 8(495)617-19-20

Подпись к.б.н. Шураховой Ю.Н. заверяю:



Ю.Н. Шурахова
ФГБУ «Центр ветеринарии»



Белинская О. А.

«13» февраля 2025 года