

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Суворова Александра Николаевича на диссертационную работу Лазарева Сергея Александровича на тему: «Исследование биологической активности метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus*», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.001.34 на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

### **Актуальность темы диссертационной работы**

В настоящее время проблема дисбиотических нарушений микробиома человека приобретает особую актуальность в связи с накоплением убедительных доказательств их патогенетической роли в развитии широкого спектра нозологических форм. Многочисленные клинические и экспериментальные исследования демонстрируют наличие устойчивых корреляционных связей между состоянием микробиоты и патогенезом не только гастроэнтерологических заболеваний, но и метаболических нарушений, аллергопатологий, аутоиммунных процессов, онкологических заболеваний и нейродегенеративных изменений.

Проведенное С.А. Лазаревым диссертационное исследование посвящено комплексному изучению биологической активности метаболитов штаммов *B. subtilis* 3Н и 1719. Актуальность работы определяется необходимостью создания современных отечественных препаратов для коррекции микробиоценозов, поиском альтернативных подходов к преодолению антибиотикорезистентности, а также разработкой новых стратегий управления микробиомом. Полученные результаты открывают новые возможности для создания эффективных и безопасных средств терапии, соответствующих современным принципам персонализированной медицины.

### **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автор проводит исследование метаболитов штаммов *B. subtilis* 3Н и 1719, которые, несмотря на известную антагонистическую активность исходных

микроорганизмов, ранее не были достаточно изучены. Такой выбор объектов исследования является обоснованным, так как штаммы исследовались ранее и показали выраженную антагонистическую активность и пробиотические свойства. Формулировка задач исследования отражает последовательную методологическую концепцию, включая оптимизацию условий культивирования, комплексный анализ антимикробных и ферментативных характеристик, оценку стабильности метаболитов и их пробиотической эффективности в условиях *in vivo*.

Выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, опираются на обширный экспериментальный материал, полученный с применением современных методов микробиологического анализа, биохимических исследований и статистической обработки данных.

#### **Достоверность и новизна исследования, полученных результатов**

Достоверность результатов обеспечена достаточным объемом экспериментальных повторностей и применением адекватных методов статистического анализа, что соответствует требованиям доказательной науки.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые осуществлено всестороннее изучение биологических свойств метаболитов, продуцируемых штаммами *B. subtilis* ЗН и 1719. В ходе исследования были обнаружены ранее не описанные особенности данных соединений, в частности их способность оказывать цитотоксический эффект и подавлять формирование биопленок условно-патогенными бактериями. Впервые выявлены в составе метаболитов цитокино-подобные вещества, что открывает дальнейшую перспективу изучения их иммуномодулирующих механизмов. Установленное пробиотическое действие на лабораторных животных при экспериментальном дисбиозе подтверждает эффективность метабиотиков и специфические особенности штаммов *B. subtilis*.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Исследование представляет теоретический интерес благодаря изучению состава метаболитов изучаемых пробиотических штаммов их действия в условиях смоделированного дисбиоза. Полученные данные расширяют представления о молекулярных основах их антимикробной, ферментативной и иммуномодулирующей активности. Автору удалось выявить штаммоспецифические особенности биологического действия метаболитов, что открывает новые возможности для создания индивидуализированных подходов к коррекции дисбиотических состояний.

С практической точки зрения работа ценна тем, что её результаты имеют потенциал для внедрения в медицинскую и фармацевтическую практику. Выявленные свойства метаболитов позволяют рассматривать их как перспективные компоненты новых целенаправленных терапевтических средств. Особенно важно, что была доказана их эффективность в условиях экспериментального дисбиоза, что свидетельствует о возможности дальнейшего клинического применения.

Полученные результаты нашли применение в образовательной сфере и при разработке пробиотических продуктов, что подтверждается документированными актами внедрения.

#### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.11. Микробиология, в частности пунктам: п. 6 «Продукция биологически активных веществ микроорганизмами»; п. 7 «Ферменты микроорганизмов»; п. 13 «Симбиотические микробные сообщества, в том числе микробиота человека и животных»; п. 15 «Структурированные сообщества микроорганизмов, в том числе биопленки».

#### **Полнота освещения результатов диссертации в печати**

По результатам исследования автором опубликовано 10 печатных работ, отражающих содержание диссертации, в том числе 2 статьи, включенные в международные базы данных. 1 статья, включенная в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК

при Минобрнауки России; 1 иная публикация, а также 3 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

### **Содержание и оформление диссертационной работы**

Настоящая диссертационная работа объемом 133 страницы представляет собой законченное научное исследование, выполненное в соответствии с установленными требованиями. Работа содержит все необходимые структурные элементы: введение с обоснованием актуальности исследования, подробный аналитический обзор литературы, описание методологической базы, представление и анализ полученных результатов, заключение с выводами и практическими рекомендациями, а также перспективные направления дальнейших исследований. Особое внимание уделено справочному аппарату - работа включает перечень сокращений и обширный библиографический список из 215 источников (67 отечественных и 148 зарубежных публикаций), что свидетельствует о глубине проработки темы. Наглядность представления результатов обеспечивают 21 таблица и 6 иллюстраций.

Во введении автор последовательно раскрывает теоретическую и практическую значимость исследования, анализирует степень разработанности проблемы, четко формулирует цели и задачи работы, выделяет элементы научной новизны, определяет положения, выносимые на защиту, а также приводит сведения об апробации результатов и своем личном вкладе в исследование.

Аналитический обзор литературы составлен логично и написан хорошим литературным языком. Он представляет собой систематизированное изложение современных научных представлений о роли микробиоты в физиологических и патологических процессах, механизмах развития дисбиотических нарушений, существующих терапевтических стратегиях и перспективах применения метабиотиков как нового класса корректоров микробиоценоза. Этот раздел демонстрирует глубокое понимание автором

исследуемой проблематики. Из замечаний по этому разделу обращает на себя внимание устаревшие названия типов бактерий, которые автор почему-то называет группами (фирмикуты, бактериоиды и тд), а также обозначение кишечника как толстый и тонкий, что не принято в клинике. По этой части работы у меня возникает вопрос о представлении автора о дисбиозе, как о важном факторе возникновения заболеваний. На 18 странице он пишет, что дисбиоз представляется заменой биопленки индигенной микробиоты на биопленку из ассоциации условно-патогенных бактерий. Хотелось бы понимать, как это все представляет себе диссертант при наличии слоя слизи между кишечным эпителием и просветом кишечника.

Методологический раздел содержит детальное описание характеристик исследуемых штаммов *B. subtilis*, технологических параметров получения метаболитов, комплекса методов оценки их биологической активности, а также статистических подходов к обработке полученных данных. Представленные методики соответствуют современным научным стандартам. Хотелось бы в дальнейшем более углубленно исследовать состав факторов обеспечивающих антагонизм и ферментативную активность веществ состава метаболитов.

Результаты собственных исследований изложены, начиная с характеристик пробиотической активности метаболитов, их антагонистического действия в отношении условно-патогенной микрофлоры, способности ингибировать биопленкообразование, и заканчивая выявлением цитокиноподобных веществ в их составе.

Раздел, касающийся антимикробной активности подготовлен хорошо и убедительно. Убеждают и данные касающиеся подбора условий культивирования продуцентов метаболитов. Единственное, что бы я рекомендовал автору делать, это выносить обнаруженную цитопатическую активность против микроорганизмов в качестве первого вывода. Механизм действия бактериоцинов бацилл неплохо описан в научной литературе и первенство для двух новых штаммов не много добавляет к работе.

Раздел, касающийся цитокиноподобных веществ бацилл наиболее интригующий. Эта часть исследования безусловно представляет особый интерес и требует обсуждения. Автор, как мне кажется, неосторожно на основании иммуноферментного анализа чуть ли не ставит знак равенства между цитокинами и продуктами метаболизма бактерий. Так, например, в автореферате написано «В метаболитах штамма *B. subtilis* 1719 идентифицированы относительно высокие концентрации IL-1 $\beta$ , а также IL-1 $\alpha$ , IL-13, IL-31 и IL-33». Этот факт интересен, но требует более осторожных формулировок и более убедительных доказательств. В первую очередь, хотелось бы увидеть подтверждения наличия такого характера продуктов другими методами, включая методы молекулярно-генетического, а также узнать мнение диссертанта, в чем диссертант видит биологическую роль такого рода веществ у бактерий, биологически не связанных с длительной колонизацией млекопитающих, включая человека.

Анализ ферментативной активности веществ в составе метаболитов представляет интерес, однако, наличие белка-фермента размерами 225 килодальтон меня не убеждает. Хотелось бы более убедительного доказательства присутствия у *B. subtilis* фермента такого размера.

Особое внимание уделено доказательству штаммоспецифичности биологической активности метаболитов, ее зависимости от условий культивирования и сохранению после лиофильной сушки. Раздел, касающийся восстановления состава микробиоты описан наиболее детально. Автором детально изучено влияние исследуемых метаболитов на восстановление микробиоценоза при экспериментальном дисбиозе, включая стимуляцию роста лактобактерий и избирательную элиминацию условно-патогенных микроорганизмов. Очень любопытно, что выявленные изменения достаточно сильно различались.

В заключительной части работы автор не только подводит итоги исследования, но и предлагает конкретные схемы возможного применения метабиотиков на основе *B. subtilis* в клинической практике.

Сформулированные выводы полностью соответствуют поставленным задачам и объективно отражают полученные результаты.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы С.А. Лазарева.

### **Замечания по содержанию и оформлению диссертации**

Замечаний по оформлению диссертации практически нет, текст написан хорошим литературным языком с малым количеством ошибок и опечаток. Замечания по сути изложения отмечены при описании различных разделов работы в виде вопросов диссертанту. Замечания касались определения дисбиоза, цитокин-подобных веществ, обнаруженных в метаболитах, размеров фермента 225 kDa и формулировки первого вывода по результатам диссертации. Замечания носят дискуссионный характер и не имеют принципиального значения при оценке работы.


### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Лазарева Сергея Александровича на тему: «Исследование биологической активности метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus*», выполненная под руководством д.м.н., профессора Михайловой Натальи Александровны на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи - получение и комплексное исследование биологической активности метаболитов пробиотических штаммов *B. subtilis* (3Н и 1719). Проведенные эксперименты *in vitro* и *in vivo* позволили получить новые данные о механизмах действия метабиотиков, что имеет важное значение для развития этого перспективного направления. Полученные результаты обладают значительным практическим потенциалом и могут быть использованы для совершенствования подходов к коррекции дисбиотических нарушений различного генеза.

Таким образом, представленная на отзыв работа, в должной мере отвечает критериям пункта 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Лазарев Сергей Александрович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 1.5.11. Микробиология.

**Официальный оппонент:**

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Институт экспериментальной медицины»  
197022, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12  
[navivus2@gmail.com](mailto:navivus2@gmail.com), тел : +7 921 934-28-12

  
\_\_\_\_\_  
(подпись)



Суворов Александр Николаевич

Специальность: 1.5.11. Микробиология (03.02.03.)

Согласен на обработку персональных данных.

 20 25 г.

Подпись член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора,  
Суворова Александра Николаевича заверяю.

  
  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт  
экспериментальной медицины»  
197022, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12  
Тел: +7 (812) 234-68-68, email: [iem@iemspb.ru](mailto:iem@iemspb.ru), сайт : <https://iemspb.ru>

