

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Припутневич Татьяны Валерьевны 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 современной медицине проблема дисбиотических нарушений микробиоты человека приобретает все большую значимость, учитывая их связь с развитием широкого спектра патологий, включая заболевания желудочно-кишечного тракта, метаболический синдром, аллергические и аутоиммунные заболевания. Традиционные пробиотики, содержащие живые микроорганизмы, имеют ряд ограничений, таких как низкая выживаемость в организме и непредсказуемая эффективность. В этом контексте разработка метабиотиков – препаратов на основе метаболитов пробиотических штаммов представляет собой перспективное направление, позволяющее преодолеть указанные недостатки.

Диссертационная работа Лазарева С.А. посвящена исследованию биологической активности метаболитов штаммов *Bacillus subtilis* 3Н и 1719, что соответствует современным тенденциям в микробиологии. Актуальность темы подтверждается необходимостью создания новых отечественных препаратов для коррекции дисбиоза, а также поиском альтернатив традиционным антибиотикам в условиях роста антимикробной резистентности.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автор обоснованно подходит к выбору объектов исследования – штаммов *Bacillus subtilis* 3Н и 1719, которые ранее были охарактеризованы как пробиотические, но их метаболиты оставались малоизученными.

Поставленные задачи логически связаны с целью работы и включают оптимизацию культивирования, изучение противомикробной и ферментативной активности, оценку стабильности метаболитов и их пробиотического действия *in vivo*.

Выводы и рекомендации диссертации базируются на значительном объеме экспериментальных данных, полученных с использованием современных микробиологических, биохимических и статистических методов. Результаты подтверждены репрезентативным количеством опытов и корректной статистической обработкой.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов обеспечивается применением стандартизированных методик, использованием сертифицированного оборудования и проведением экспериментов на достаточном количестве лабораторных животных. Научная новизна работы заключается в том, что впервые проведено комплексное исследование биологической активности метаболитов штаммов *B. subtilis* 3Н и 1719. Автором установлены ранее неизвестные свойства этих метаболитов, включая их цитотоксическое действие и способность к ингибированию биопленкообразования условно-патогенными микроорганизмами. Впервые идентифицированы цитокиноподобные вещества в составе метаболитов, что расширяет представления о механизмах иммуномодулирующего действия пробиотиков. Полученные данные о штаммоспецифических особенностях действия метаболитов создают основу для разработки персонализированных подходов к коррекции дисбиотических нарушений.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость исследования заключается в расширении знаний о механизмах действия метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*. Работа вносит вклад в понимание молекулярных основ их противомикробной, ферментативной и иммуномодулирующей активности. Выявленные закономерности синтеза биологически активных соединений в

зависимости от условий культивирования имеют важное значение для фундаментальной микробиологии и биотехнологии.

Практическая ценность исследования подтверждается реальными возможностями применения полученных результатов. Установленные свойства метаболитов позволяют рассматривать их как перспективные компоненты для создания новых лекарственных средств направленного действия. Особого внимания заслуживает доказанная эффективность метаболитов в коррекции экспериментального дисбиоза, что открывает пути для их клинического применения.

Результаты работы уже нашли практическое применение в учебном процессе и при производстве пробиотических продуктов, что подтверждается соответствующими 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

Текст научно-квалификационной работы представлен в логически стройной и последовательной форме, включая все необходимые разделы. Диссертация оформлена на 133 страницах машинописного текста и содержит введение, обзор литературы, описание используемых материалов и методов, представление результатов исследования и их интерпретацию, заключение, основные выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, перечень сокращений и условных обозначений, а также список использованных источников. В работе приведены 21 таблица и 6 иллюстраций. Библиографический список насчитывает 215 источников, среди которых 67 отечественных и 148 зарубежных.

В главе «Введение» обоснована актуальность темы исследования, четко сформулированы цель и задачи, раскрыта научная новизна и практическая значимость. Описаны ключевые положения, выдвигаемые на защиту, а также рассмотрены вопросы апробации и личного вклада автора в исследование.

В первой главе автор представляет развернутый обзор литературы по теме исследования, структурированный в несколько подразделов. Литературный анализ отражает актуальное состояние научных знаний по рассматриваемой проблеме, демонстрируя эволюцию представлений о микробиоте человека, дисбиотических нарушениях и современных подходах к их коррекции, включая перспективы разработки метабитиков.

Во второй главе подробно описаны методологические аспекты исследования. Представлены характеристики исследуемых объектов, описан процесс получения метаболитов *B. subtilis*, методы оценки их биологической активности, а также используемые микробиологические, биохимические и статистические методы, соответствующие современным научным стандартам и обеспечивающие достоверность полученных результатов.

Третья глава, озаглавленная «Результаты и обсуждение», представляет собой обобщение авторских исследований и состоит из нескольких разделов. В этой главе последовательно изложены данные о пробиотической активности

метаболитов *B. subtilis* ЗН и 1719, их антагонистическом действии в отношении условно-патогенных микроорганизмов, способности ингибировать биопленкообразование, а также наличия в составе метаболитов цитокиноподобных веществ. Установлено, что биологическая активность полученных метаболитов является штаммоспецифичной, определяется условиями культивирования и сохраняется при хранении после лиофильной сушки. Автором выявлены особенности действия исследуемых метаболитов в условиях экспериментального дисбиоза: установлено их влияние на восстановление микробиоценоза, стимулирующее действие в отношении лактобактерий, а также избирательная элиминация условно-патогенной флоры.

Результаты сопоставлены с данными других исследований и дополнены графическими иллюстрациями и таблицами. В заключительной части автор не только подводит итоги, но и формулирует схему возможных направлений использования метабиотиков на основе *B. subtilis* в практике коррекции дисбиотических нарушений. Выводы исследования сформулированы объективно и обоснованно, в полном соответствии с поставленными задачами.

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 содержанию и оформлению диссертации нет. Имеющиеся орфографические и стилистические ошибки принципиального значения не имеют. В качестве дискуссии к диссертанту есть несколько вопросов:

1. При исследовании мукозной микробиоты мышей Вы использовали в составе питательных сред агар Шедлера и среду для бифидобактерий, необходимые для выделения облигатно-анаэробных микроорганизмов. Однако приведенные данные о составе микробиоты показали, что у контрольных мышей на всех этапах эксперимента идентифицированы только факультативно-анаэробные

микроорганизмы - *Escherichia coli* (lac+), *Enterococcus* spp. (*E. gallinarium*, *E. faecalis*), *Rodentibacter* spp. (*R. pneumotropicis*, *R. heylii*), *Streptococcus* spp. (*S. hyointestinalis*, *S. suis*), а также грибы *Kazachstania* spp. (*K. pintolopesii*) и микроаэрофилы - *Lactobacillus* spp. (*L. gasei*, *L. murinus*, *L. reuteri*, *L. intestinalis*). Значит ли это, что у мышей отсутствует анаэробная составляющая микробиоты?

2. Для коррекции микробиоты мышей после искусственно созданного дисбактериоза Вы использовали метаболиты штаммов *Bacillus subtilis*, которые способствовали восстановлению пула факультативно-анаэробной нормобиоты и лактобацилл. А что было бы с облигатно-анаэробной микрофлорой, если бы она была, и как эти метаболиты могут влиять на нормофлору человека, в том числе на доминирующую облигатно-анаэробную, и на способность формировать биопленки, например, лактобациллами и бифидобактериями, конкурирующими с условно-патогенными микроорганизмами за рецепторы на энтероцитах (пробиотический эффект)?

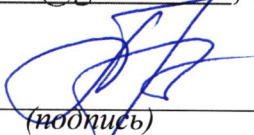
Заключение

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 метаболитов пробиотических штаммов *B. subtilis* (3Н и 1719) и исследование их биологической активности в опытах *in vitro* и *in vivo*, что вносит вклад в понимание механизмов действия метабиотиков и имеет существенный практический потенциал в совершенствовании коррекции дисбиотических нарушений. Диссертационная работа отвечает критериям п. 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 учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
priput1@gmail.com, тел : +7 910 414-56-16



Припутневич Татьяна Валерьевна

Специальность: 1.5.11. Микробиология (03.02.03.)
Согласна на обработку персональных данных.

20 25 г.

Подпись члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, Припутневич Татьяны Валерьевны заверяю:



Павлович Станислав Владиславович

Ученый секретарь, кандидат медицинских наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Тел: +7(495) 438-18-00, email: info@oparina4.ru, сайт: <https://ncagp.ru>