

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазарева Сергея Александровича на тему «Исследование биологической активности метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus*», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Штаммы бактерий рода *Bacillus*, в том числе вида *subtilis*, широко применяются в разных отраслях жизнедеятельности человека:

- в пищевой промышленности в качестве технологических микроорганизмов, синтезирующих многочисленные виды ферментов (α - и β -амилаз, декарбоксилаз, β -глюканаз, бациллолизина, гемицеллюлаз, глюкоизомераз, глюкозилтрансфераз, декстраназ, инвертаз) для производства продукции,
- в фармацевтике, как продуценты антибиотиков (из 200 известных соединений такого рода в производство внедрены представители трёх классов бацитрацины, полимиксины, тиротрицины),
- в медицине и ветеринарии в виде пробиотических лекарственных препаратов на основе жизнеспособных споровых бацилл.

Последние зарекомендовали себя эффективными средствами для лечения бактериальных диарей, благодаря быстрой элиминации из кишечника условно-патогенных микроорганизмов и нормализации микробиоты. Во многом эти эффекты до сих пор остаются эмпирическими, поэтому изучение их механизмов, среди которых основная роль принадлежит выделяемым в просвет бактериальным метаболитам, способным проявлять биологическую активность, является актуальной и практически значимой задачей.

Судя по автореферату, именно этой научной проблеме и посвящена диссертационная работа С.А.Лазарева, в которой он направил усилия на идентификацию нативных экзометаболитов, выделяемых в среду культивирования штаммами *Bacillus subtilis* 3Н и 1719, ранее продемонстрировавшими пробиотический потенциал, и на изучение спектра свойств этих биологически активных веществ (БАВ) в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Сформулированные в работе задачи имеют комплексный характер: помимо выделения БАВ *B.subtilis* и изучения их структурно-функциональных свойств исследовались также условия сохранения активности этих нестабильных по своей природе метаболитов, а в модели экспериментального дисбиоза у лабораторных животных - их безвредность и способность в отсутствие живых клеток пробиотика восстанавливать кишечную флору, что подтверждает системный подход автора к достижению цели. Основные положения, выносимые на защиту, изложены в четкой и обоснованной форме.

Работа выполнена с применением современной приборной базы, актуальных методов анализа (стерилизующая мембранная фильтрация, молекулярно-массовое разделение метаболитов с помощью центрифужных концентраторов и ультрафильтрации, хромато-масс-спектрометрия, сэндвич-ИФА-подобная проточная цитометрия, электрофорез в ПА-АГ, MALDI-TOF/МС) и обоснованных параметрических и непараметрических статисти-

ческих подходов. Тесты *in vivo* одобрены этическим комитетом ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова.

В результате автором установлено, что среди метаболитов обоих штаммов присутствует действительно широкий спектр БАВ, состоящий из: (а) 23-х низкомолекулярных соединений (<5 кДа) с противомикробной активностью, в том числе 2-х природных антибиотиков мицинамицина VI и лоуренобиоида, (б) комплекса веществ с молекулярной массой более 30 кДа, проявляющих выраженную протео- и амилаолитическую ферментативную активность, (в) соединений, иммунологически подобных 6 видам провоспалительных цитокинов, синтезируемых эукариотическими клетками.

Исследования *in vivo* у мышей с дисбиозом показали штаммоспецифическое корректирующее действие метаболитов *B.subtilis*, что, по сути, раскрывает механизм элиминационного эффекта споровых пробиотиков.

При этом новизна работы, на мой взгляд, состоит в получении данных по двум ранее не исследованным в России характеристикам биологической активности метаболитов *B.subtilis* – их способности значимо ингибировать биоплёнкообразование (БПО) у условно-патогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также вырабатывать вещества с эпитопами, гомологичными таковым у цитокинов IL-1β, IL-8, IL-31, IL-1α, IL-13, IL-33.

Можно предположить, что эффект БПО расширит спектр потенциального применения метаболитов *B.subtilis* в качестве средств антимикробной терапии и даже биодезинфектантов. Что касается цитокиноподобных метаболитов, возможно, их присутствием объясняются причины активации макрофагов организма хозяина под влиянием споровых пробиотиков. Это представляет большой теоретический и клинический интерес, хотя, как справедливо отмечает автор, требует дальнейшего изучения.

Практическая ценность диссертационного исследования выражается в широком потенциале метаболитов *B. subtilis* 3Н и 1719 для фармацевтики в качестве компонентов в составе новых пробиотических лекарственных препаратов для таргетной терапии нарушений состава нормофлоры, а также как источников получения новых антибиотиков, не способных к быстрой индукции резистентности и минимально воздействующих на полезную микробиоту макроорганизма и биогеоценозов.

Согласно автореферату, полученные результаты внедрены в учебный процесс, а охарактеризованный метаболит используется в производстве пробиотического продукта, что подтверждено актом внедрения.

Автором опубликовано 10 научных работ по теме диссертации, в том числе: 2 научные статьи в журналах, входящих в международные базы данных (1 из них обзорная); 1 статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России; 1 иная публикация; 6 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Автореферат изложен логично, представляя в сжатой форме все основные разделы диссертации. Приведенные иллюстрации и таблицы содержат статистически достоверные данные.

Принципиальных замечаний по содержанию автореферата нет.

В порядке дискуссии предлагаю автору ответить на вопрос: «Можно ли с уверенностью экстраполировать ингибирующий эффект метаболитов *B.subtilis* на процесс биоплёнкообразования у возбудителей ИСМП, если таковой был показан не на клинических изолятах, а на тест-штаммах условно-патогенных бактерий *S.aureus*, *P.mirabilis*, *E.coli*?».

В целом диссертационная работа Лазарева Сергея Александровича на тему: «Исследование биологической активности метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus*» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой. Результаты исследования являются актуальными и оригинальными, вносят существенный вклад в развитие микробиологии, что соответствует требованиям 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.

Доктор медицинских наук,
заведующий лабораторией био-
безопасности и анализа нутри-
микробиома
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательско-
го центра питания, биотехноло-
гии и безопасности пищи

Шевелева Светлана
Анатольевна

«07» сентября 2025 г.

Подпись руки	<i>Шевелева СВ</i>
ЗАВЕРЯЮ: ученый секретарь	<i>Мирская Ю</i>
" 07" <u>сентября</u> 2025 г.	<i>20 25</i>



ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14
(495) 698-53-60, E-mail: mailbox@ion.ru, Сайт: www.ion.ru