

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Евдокимовой Светланы Александровны

«Метод конструирования синбиотических композиций направленного действия для подавления роста патогенов»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертации. Нарушения состава микробиоты толстого кишечника приводят к снижению ее функциональной активности и, в последствии, могут индуцировать различные заболевания человека. Для профилактики дисбиозов и восстановления нормальной структуры поврежденного микробного сообщества активно применяются пробиотики, пребиотики и их комбинации – синбиотики, признаваемые наиболее перспективными. Однако вопрос о сравнении эффективности в отношении отдельных препаратов остается открытым. Кроме того, нет единого подхода для первичных исследований, при конструировании новых синбиотических композиций. Одним из основных механизмов действия синбиотиков является их способность к подавлению роста патогенных и оппортунистических микроорганизмов, для количественной оценки и прогнозирования которого может быть применено математическое моделирование. Модели роста со-культуры пробиотиков и тест-штаммов в присутствии пребиотика могут стать перспективным подходом для обоснования и сравнения эффективности синбиотиков на этапе исследований *in vitro*. Вышеперечисленное обуславливает актуальность и научную значимость диссертационной работы Евдокимовой С.А.

Научная новизна и практическая значимость. В работе Евдокимовой С.А. при совместном культивировании пробиотика и тест-штамма в присутствии пребиотика или без него предложен подход и создана математическая модель, описывающая ингибирование роста тест-штамма метаболитами пробиотика, из которой был выведен количественный критерий эффективности синбиотиков. Установленные закономерности являются теоретической основой для конструирования синбиотических композиций.

Исследовано влияние и установлены количественные взаимосвязи между начальными численностями пробиотика и тест-штамма и конечной численностью последнего при совместном культивировании в среде с различными пребиотиками с применением методологии активного эксперимента.

Для исследования подавления пробиотиком тест-штамма в условиях, имитирующих толстый кишечник человека, проведено их совместное культивирование по схеме одностадийной непрерывной ферментации и разработана математическая модель, позволяющая установить количественные параметры воздействия на тест-штамм через константы ингибирования.

Впервые проведено сравнение влияния микробного контаминанта на биоценоз кишечника на фоне предварительного введения пробиотика с применением трехстадийной непрерывной *in vitro* модели толстого кишечника. Установлено, что математическая модель, основанная на константах ингибирования органическими кислотами, описывает подавление роста тест-штамма с приемлемой точностью.

Экспериментальные данные были использованы для создания специализированного Программно-алгоритмического обеспечения для нейросетевого моделирования микробиологических процессов. Данные модели могут быть применены для исследования процессов колонизации микробного сообщества микроорганизмами-симбионтами, а также его контаминации патогенами.

В связи с этим, тема диссертационной работы С.А. Евдокимовой «Метод конструирования синбиотических композиций направленного действия для подавления роста патогенов», несомненно, является актуальной, а полученные результаты обладают научной новизной и практической значимостью. По своей направленности, тематике и методологии исследований работа полностью соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология.

Обоснованность научных положений, результатов, выводов и рекомендаций базируется на тщательной проработке теоретических основ изучаемой проблемы и анализе собственных экспериментальных данных, включающем математическое моделирование и статистическую обработку. В работе представлен акт апробации результатов исследований, в котором указано, что они обладают коммерческим потенциалом. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, значение полученных результатов для науки и практики обеспечивается большим объемом экспериментальных данных.

Диссертационная работа Евдокимовой С.А. выполнена на хорошем методическом уровне с использованием современных методов, приборов и биоинформационных программ. Эксперименты проводили в трех-пятикратной повторности, и их достоверность не вызывает сомнения. Результаты представлены в виде среднего значения, погрешности – стандартного отклонения по выборке.

К чести диссертанта все поставленные задачи были успешно выполнены.

При выполнении диссертационной работы описаны и охарактеризованы все закономерности роста при отдельном и совместном культивировании пробиотиков и тест-штаммов. Разработана математическая модель для описания антагонизма пробиотика в отношении тест-штамма в присутствии пребиотика, которая была проверена с последовательным приближением условий к реальному кишечному биоценозу.

Таким образом, на основании комплексного решения проблем на всех этапах исследования диссертанту удалось разработать, по сути, технологию полного цикла получения синбиотиков направленного действия для борьбы с контаминантами кишечника и получить новый продукт высокой эффективности по качественным показателям соответствующий требованиям современной фармакопеи.

Данные исследований могут быть применены для получения новых синбиотиков, а предложенные в работе методы и подходы – в биосинтетических процессах производства других высококачественных препаратов.

Краткая характеристика основного содержания диссертации. Диссертационная работа Евдокимовой С.А. изложена на 276 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, включающей материалы и методы исследования, результатов и их обсуждения, выводов, списка сокращений, списка цитированной литературы, который включает 320 источников, списка работ,

опубликованных по теме работы и приложений. Диссертация содержит 22 таблицы, 56 рисунков, 10 приложений.

Во введении автор описывает существующую научную проблему, актуализирует тему исследования, обосновывает цель и основные направления ее реализации, формулирует основные положения, выносимые на защиту.

«Обзор литературы» разделен на 3 части. Первая часть посвящена составу и свойствам микробиоты кишечника человека, ее роли в жизни человека. Во второй части обзора – представлены способы модуляции микробиоты (пробиотики, пребиотики, синбиотики). В третьей части – методы исследования воздействия пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков на микробное сообщество кишечника.

В главе «Материалы и методы» диссертантом подробно представлены методы исследования (более 20 различных методов), использованные в работе: современные микробиологические, молекулярно-биологические, аналитические, физико-химические, биотехнологические и математические.

В главе «Результаты и их обсуждение» в первом разделе показан эффект олигофруктозы и лактулозы на рост тест-штамма и продуцирование ингибирующих метаболитов бифидобактериями. В присутствии бацилл повышалась удельная скорость роста бифидобактерий. Сделан вывод о специфичности каждой синбиотической композиции.

Математическое моделирование биологических процессов позволило повысить объективность и понимание таких процессов как: рост, выживание и инактивация микроорганизмов, поведение микроорганизмов в зависимости от факторов внешней среды; количественная оценка совместного влияния всех этих факторов позволило прогнозировать поведение микроорганизмов. Были определены константы ингибирования и параметры МС-модели для математического описания роста *Bac. cereus*, *St. aureus* и *Sal. enterica*.

Последующие разделы «Результатов и их обсуждения» посвящены исследованию и определению синбиотического фактора, синбиотической эффективности композиций бифидобактерий и фруктанов, исследование фракций фруктанов корня лопуха и клубней топинамбура с помощью ¹³C-ЯМР, антагонизм синбиотических композиций *Bif. bifidum* и фруктанов корней лопуха в отношении в отношении *Bac. cereus*, в отношении *Sal. enterica* и анализ поверхностей откликов. Были исследованы моно- и со-культуры *Bif. adolescentis* и *Bac. cereus* при непрерывном культивировании в одностадийной модели толстого кишечника, культивировании с варьированием концентрации пребиотика, непрерывное культивирование на глюкозе. Исследовано воздействия *Bac. cereus* на фекальную микробиоту в непрерывной трехстадийной функциональной модели кишечника в присутствии синбиотика или пребиотика, а также на фоне предварительного внесения в систему *Bif. adolescentis*, влияния на микробное сообщество контаминанта *Bac. cereus*

В последних разделах главы «Результаты и обсуждения» представлен материал по математическому моделированию роста *Bacillus cereus* при непрерывном культивировании в системе TSC на фоне и без предварительного внесения пробиотика и эффективности применения разработанного метода в лабораторных условиях.

Завершается диссертационное исследование выводами, которые полностью отражают полученные Евдокимовой С.А. результаты и соответствуют целям и задачам диссертационной работы.

Диссертация Евдокимовой С.А. производит очень хорошее впечатление. Материал диссертационной работы хорошо структурирован, изложен последовательно, логично, содержит информативные графики, диаграммы, иллюстрации и таблицы, написан хорошим языком, не содержит ошибок. Выводы обоснованы полученными результатами. Прделана большая, тщательно спланированная, кропотливая и трудоемкая работа, получены интересные и важные в биотехнологическом плане результаты.

По диссертационной работе Евдокимовой С.А. можно сделать следующие замечания.

1. При описании культуральных свойств не отражается продуктивность штаммов. Проводились ли исследования в этой связи?
2. Много выводов в диссертационной работе, они должны быть более конкретными, носить также рекомендательный характер.

Приведенные замечания не снижают общего положительного впечатления от работы и в основном носят частный характер. По материалам диссертации опубликовано 22 работы, в том числе 10 публикаций в журналах, индексируемых международной системой SCOPUS и Web of Science, 1 публикация в журнале, рекомендованном к изданию ВАК, и получен 1 патент и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Результаты работы представлены на отечественных и международных конференциях. Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с действующими правилами ВАК РФ. Диссертация соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6 - Биотехнология по п. 3 (в части: создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения), п. 8 (в части: разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых биопрепаратов).

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Автореферат изложен на 19 страницах и полностью соответствует содержанию самой диссертации. Выводы в автореферате и диссертации идентичны. По актуальности, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверности и новизне диссертационная работа и автореферат Евдокимовой С.А. «Метод конструирования синбиотических композиций направленного действия для подавления роста патогенов» соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Цели и задачи диссертационной работы, определенные Евдокимовой С.А., решены методически корректно и научно обоснованы. Диссертация имеет важное научное и практическое значение. Сделан весомый вклад в область разработки новых эффективных способов получения высококачественного синбиотического препарата для поддержания здоровой микробиоты человека.

Диссертационная работа Евдокимовой С.А «Метод конструирования синбиотических композиций направленного действия для подавления роста патогенов» является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности темы, адекватности использованных методов, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям ВАК РФ п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Считаю, что автор Евдокимова Светлана Александровна заслуживает присуждения ей степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ им. М.В. Ломоносова),

кандидат биологических наук (03.00.04 – Биохимия)

Сорокина Елена Владимировна

05.02.2024

Тел.: 8(495) 939 56 01, 89851993028

e- mail: evsorokina77@mail.ru

119234, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ им. М.В. Ломоносова), биологический факультет, тел.: 8 (495) 939-10-00, e-mail: info@rector.msu.ru, web-site: www.msu.ru.

Подпись Сорокиной Е.В. заверяю:
Заместитель декана по научной работе
Биологического факультета МГУ имени
М.В. Ломоносова



Рубцов А.М.