

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Зурабова Федора Михайловича «Исследование и оценка терапевтического потенциала комбинации бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология

Бактериофаги (вирусы бактерий, как правило принадлежащие к классу хвостатых вирусов) имеют долгую историю применения в качестве противомикробных агентов в медицине, ветеринарии, растениеводстве и пищевой промышленности. После десятилетий доминирования низкомолекулярных антибиотиков наблюдается возрастание интереса к фаготерапии, прежде всего в силу массового развития антибиотикоустойчивости бактериальных патогенов. Несмотря на фундаментально доказанную эффективность бактериофагов для лечения бактериальных инфекций, многие аспекты характеристики терапевтических бактериофагов и лекарственных форм на их основе, а также тестирования, регламентирования и внедрения препаратов, остаются дискуссионными. При этом наблюдаются определённые противоречия в приоритетах требований, выдвигаемых к перспективным фагопрепаратам фундаментальными и прикладными исследователями, биотехнологами, клиницистами и законодателями. В этом контексте рецензируемая работа, посвященная поиску консенсуса подходов, безусловно актуальна и имеет важную идеологическую ценность.

Квалификационная работа Ф.М. Зурабова, представленная на защиту, посвящена изучению алгоритма компоновки, тестирования и внедрения комбинаций бактериофагов («фаговых коктейлей») для борьбы с актуальными, в том числе антибиотикоустойчивыми, штаммами бактериального патогена *Klebsiella pneumoniae*. Целью научно-квалификационной работы является создание комбинаций охарактеризованных бактериофагов *K. pneumoniae*, оценка их безопасности,

изучение их синергизма в составе комплексного фагового препарата; исследованные бактериофаги были включены в препарат широкого спектра действия и в его составе впервые была оценена безопасность применения бактериофагов у тяжелого контингента пациентов, находящихся в хроническом критическом состоянии, а также безопасность и эффективность применения ингаляционных и пероральных форм комплексных фаговых препаратов в реабилитации пациентов, перенесших COVID-19. Исследования подобного плана закладывают основу для рационального применения бактериофагов в фармакологии.

Диссертация Ф.М. Зурабова написана по традиционному плану, содержит 169 страниц текста, иллюстрирована 18 таблицами и 19 рисунками. и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список литературы (265 цитированных источников), а также 4 приложения.

В тексте работы обращает на себя внимание прекрасно написанное введение. Эта часть, также послужившая основой автореферата, описывает актуальность, научную новизну и теоретическую значимость проекта, его цели и задачи. Информация отлично структурирована, гармонично сочетает в себе хрестоматийные и новейшие данные, которые представлены кратко и по существу. Единственное замечание – чересчур общее и обтекаемое описание личного вклада диссертанта в большой и разноплановый проект, представленный в диссертации.

В обзоре литературы приведены общие сведения о биологии, таксономии, экологии бактериофагов, основных методах фагобиологических исследований и применении фагов в терапевтических целях. Обзор показывает высокий уровень диссертанта во владении предметом исследования. Однако, по мнению оппонента, некоторые аспекты изложены чересчур подробно, например, экологическая роль бактериофагов в биосфере

и микробиоме кишечника человека. Эта информация, безусловно, интересна и хорошо изложена, но прямого отношения к теме работы не имеет.

Глава «Материалы и методы» содержит описание схем проведенных экспериментов и используемых в работе методов. Методики изложены достаточно детально для независимого воспроизведения. Хотелось бы обратить внимание, что автором впервые использован остроумный новый метод визуализации лизиса бактериальной культуры в режиме реального времени. В дальнейшем эта находка может получить значительное экспериментальное развитие.

Результаты проведенных исследований и их обсуждение представлены в соответствующем разделе. Экспериментальные данные изложены подробно. Постановка экспериментов, необходимых для решения поставленных диссертантом задач, логически обоснована. Следует отметить высококачественные и наглядные иллюстрации, сопровождающие изложение результатов.

Выводы, сделанные в работе, полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам, обоснованы и корректно сформулированы. Ф.М. Зурабовым в соавторстве опубликовано 8 статей в рецензируемых научных журналах. Результаты исследований доложены на многочисленных международных и Российских конференциях. В целом диссертация Ф.М. Зурабова «Исследование и оценка терапевтической перспективы комбинации бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*» является законченным самостоятельным исследованием.

По результатам изучения текста диссертации можно высказать ряд замечаний:

1. Феномен образования устойчивых мутантов при действии фагов на популяцию бактериальных клеток известен давно. Ряд деталей этого процесса, особенно при действии бактериофагов на популяцию

патогена в макроорганизме хозяине, изучены по-прежнему недостаточно. В работе проводится оценка генерации фагоустойчивых мутантов при отдельном и совместном применении фагов с использованием одного штамма *K. pneumoniae* in vitro, с получением предсказуемого результата. По мнению оппонента, вынесение этого результата в отдельный вывод диссертации чересчур амбициозна.

2. Рестрикционный анализ геномов бактериофагов – достаточно редко применяемый метод для характеристики и установления уникальности исследуемого фага. Чем обусловлен выбор эндонуклеаз рестрикции, использованных в эксперименте? ДНК 3 из 4 исследованных фагов чувствительна к действию рестриктазы KpnI, характерной для *K. pneumoniae*. Как это согласуется с выводом об адаптированности фагов к системам рестрикции-модификации бактерий-хозяев?
3. С. 23 «весной доминируют профаги» - Профаг – геном бактериофага, интегрированный в геном бактерии-хозяина или существующий в виде плазмиды. Скорее всего имеются в виду индуцированные профаги или умеренные фаги.

Замечания, тем не менее, не носят принципиального характера и не умаляют достоинств работы.

Диссертационное исследование **Зурабова Федора Михайловича** «Исследование и оценка терапевтического потенциала комбинации бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.10. – «вирусология» по биологическим наукам (направления 2, 4, 6, 9), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении

ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Зурабов Федор Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология».

Официальный оппонент:

Доктор химических наук, член-корреспондент РАН,
главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биоинженерии
Государственного научного центра Федерального государственного
учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской
Академии наук» (ИБХ РАН)

Мирошников Константин Анатольевич

05 марта 2024 г.

Контактные данные:

Тел: +7(495) 335-55-88, e-mail: kmi@ibch.ru

Специальности, по которым официальным оппонентом
защищена диссертация:
03.01.04 – «биохимия»,
03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Адрес места работы:

117991, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Государственный
научный центр Федеральное государственное учреждение науки «Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН; тел. +7(495) 335-01-00, e-mail: office@ibch.ru

Подразделение: Лаборатория молекулярной биоинженерии Отдела
молекулярной биологии и биотехнологии растений

Подпись К.А. Мирошникова заверяю.
Учёный секретарь ГНЦ ФГБУН ИБХ РАН,
д. ф.-м.н. Олейников Владимир
Александрович

