

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО  
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ  
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 30.09.2016 г. №11

о присуждении Рубальскому Евгению Олеговичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Исследование влияния пробиотических композиций на физиологические показатели пула гистамина и гуморального иммунитета» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 25.07.2016 г., протокол № 9 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Рубальский Евгений Олегович 1987 года рождения. В 2010 г. окончил Астраханскую государственную медицинскую академию с присвоением квалификации врач по специальности «Лечебное дело», в 2015 г окончил обучение в очной аспирантуре в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия, работает в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители – Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Афанасьев Станислав Степанович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заместитель директора по биотехнологии.

доктор биологических наук Алешкин Андрей Владимирович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Николаева Елена Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, и

Ганина Вера Ивановна, доктор технических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)», профессор кафедры «Бизнес технологии мясных и молочных продуктов», дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск, в своем положительном заключении, подписанном Калущким Павлом Вячеславовичем, доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи современной микробиологии – разработки пробиотических композиций, физиологически снижающих пул гистамина и регулирующих иммуноглобулиновое звено гуморального иммунитета при коррекции микробиоценозов слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. По актуальности, методическому уровню, научной новизне полученных результатов, по практической значимости диссертация Рубальского Е.О. соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013, с изменениями, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Соискатель имеет 83 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации 14 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях 3 работы, 6 патентов Российской Федерации на изобретения, 1 учебное пособие, 2 монографии. Авторский вклад Рубальского Е.О. в написание научных работ составляет 75 %.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Алешкин, В.А. Нарушения микробиоценозов у детей: многоцентровое исследование. Сообщение III. Микробиоценоз и дисбактериоз кишечника / В.А. Алешкин, Х.М. Галимзянов, С.С. Афанасьев, А.В. Караулов, Ю.В. Несвижский, Е.А. Воропаева, М.С. Афанасьев, **Е.О. Рубальский** // **Астрах. Мед. Журн.** – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 124-128.

2. **Рубальский, Е.О.** Влияние пробиотических композиций на физиологические показатели пула гистамина *Mascaca mulatta* / **Е.О. Рубальский**, К.Н. Смирнова, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Д.Л. Теплый, А.В. Караулов, С.В. Орлов, Б.А. Лапин, А.В. Алешкин, А.Д. Даудова, Э.К. Джикидзе, И.М. Аршба, М.С. Афанасьев, А.Х. Ахминеева // **Астрах. Мед. Журн.** – 2015. – Т. 10, № 4. – С. 67-78.

3. **Рубальский, Е.О.** Сравнительная характеристика особенностей иммуноглобулинового профиля человека и макак резусов / **Е.О. Рубальский**, К.Н. Смирнова, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, С.В. Орлов, А.В. Караулов, Б.А. Лапин, А.В. Алешкин, О.В. Рубальский, Е.Е. Рубальская, А.Д. Даудова, М.С. Афанасьев, В.В. Усков // **Астрах. Мед. Журн.** – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 38-48.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы без замечаний от: (1) доктора медицинских наук **Орлова Сергея Владимировича**, директора Научно-исследовательского института медицинской приматологии, г. Сочи; (2) доктора медицинских наук, профессора **Куярова Александра Васильевича**, заведующего лабораторией «Фундаментальные проблемы здоровьесбережения коренных народов и пришлого населения Севера» Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», г. Сургут; (3) доктора медицинских наук, профессора **Миронова Андрея Юрьевича**, руководителя отдела микробиологии Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, г. Москва; (4) доктора медицинских наук, профессора **Быкова Анатолия Сергеевича**, профессора кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, г. Москва; (5) кандидата биологических наук **Ивановой Инны Александровны**, заведующей лабораторией иммунологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института, г. Ростов-нв-Дону.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор медицинских наук, профессор Николаева Елена Николаевна является компетентным специалистом в сфере микробиологии и имеет научные

публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Рубальского Е.О. (Dental Forum. – 2011. – № 4. – С. 17-20; Стоматол. для всех. – 2012. – № 2. – С. 16-19; Стоматол. – 2013. – Т. 92 – № 3. С. 52-55; Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2012. – № 6. – С. 110-114; Ортодонтия. – 2013. – № 4 (64). – С. 6-8; Стоматол. для всех. – 2014. – № 4. – С. 38-42; Инф. Бол. Новост. Мнен. Обуч. – 2015. – № 2. – С. 71-76; Клин. Лаб. Диагн. – 2016. – Т. 61. – № 1. – С. 54-59), доктор технических наук, профессор Ганина Вера Ивановна является одним из ведущих специалистов в области микробиологии и биотехнологии продукции на основе пробиотических микроорганизмов и имеет научные публикации в сфере исследований диссертации Рубальского Е.О. (Молоч. Пром. – 2015. – № 11. – С. 22-23; Microbiol. (Mikrobiol.). – 2014. – Т. 83. – № 3. - С. 195-204; Молоч. Пром. – 2014. – № 5. – С. 46-47; Молоч. Пром. – 2014. – № 9. – С. 46-47; Вестн. Кемеровск. Гос. Универ. – 2014. – № 2-1 (58). – С. 7-10; Техн. Технол. Пищ. Произв. – 2013. – Т. 1. – С. 58А-64).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области исследований микрофлоры кишечника, пробиотических препаратов, в том числе поликомпонентных пробиотиков, наличия опыта по экспериментальному моделированию дисбиотических состояний и их коррекции, а также наличием публикаций (Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2015. – №4. – С. 80-84; Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2015. – №4. – С. 84-88; Акушерс. Гинекол. – 2012 – № 1. – С. 55-59; Иммунопатол. Аллергол. Инфектол. – 2012. – № 1. – С. 19-26; Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2012. – № 1. – С. 49-54; Вестн. Росс. Универ. Друж. Народ. Серия: Мед. – 2012. – № S6. – С. 86-89).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны композиции на основе штаммов пробиотиков, которые при попадании на слизистые кишечника изменяют микробную популяцию микробиоценозов, подавляя условно-патогенные микроорганизмы, обладают отсроченным регулирующим действием на уровень гистамина в желудочно-

кишечном тракте, на содержание в крови *Macaca mulatta* базофилов и иммуноглобулинов IgG и IgG1;

предложен биоинформатический анализ данных аминокислотных последовательностей иммуноглобулинов человека и обезьян, который в сочетании с феноменологическим подходом при сравнительном анализе специфичности применяемых иммунохимических тест-систем позволяет установить структурную основу их межвидовой общности и различия;

доказана перспективность методологического подхода для разработки на основе пробиотических лактобацилл композиций направленного действия, включающего подбор штаммового состава консорциума, питательных сред и их компонентов на основании мониторинга уровня гистамина как *in vitro* в среде культивирования, так и *in vivo* в содержимом толстого кишечника испытуемых лабораторных животных, что позволяет создавать пробиотические продукты, оказывающие коррегирующее действие на аллергическую реактивность организма и перспективные для профилактики и лечения аллергических состояний;

введены новые представления о том, что низшие обезьяны могут быть использованы в качестве модели для доклинических исследований физиологического действия пробиотических композиций, направленных на коррекцию показателей пула уровня гистамина и гуморального иммунитета;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о независимости содержания гистамина в периферической крови *Macaca mulatta* от снижения уровня гистамина в содержимом кишечника этих приматов, связанного с коррекцией микробиоценозов слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы микробиологические методы (оценка состояния микробиоценоза кишечника макак резусов), биотехнологические методы (разработка и исследование пробиотических композиций *in vitro*), биологические методы (введение

пробиотических композиций мышам инбредной линии BALB/c и обезьянам *Macaca mulatta*), иммунологические (измерение концентрации гистамина в периферической крови и фекалиях обезьян, оценка уровней сывороточных иммуноглобулинов и содержания базофилов в периферической крови обезьян), биохимические методы (количественное определение гистамина в гомогенатах кишечника мышей), гистологические методы (оценка морфофункционального состояния печени, слизистых оболочек кишечника мышей), методы биоинформатики (выравнивание аминокислотных последовательностей Fc фрагментов иммуноглобулинов IgG1, IgA, IgM человека и макак резусов с построением филогенетических деревьев);

изложены результаты исследования физиологических показателей пула гистамина в фекалиях и в периферической крови; уточнены физиологические концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови интактных низших обезьян (*Macaca mulatta*);

раскрыты диагностические возможности различных тест-систем для измерения концентрации сывороточных иммуноглобулинов макак резусов, при помощи биоинформатического анализа Fc фрагментов иммуноглобулинов IgG1, IgA и IgM;

изучено и установлено повышение уровня иммуноглобулинов IgG в крови *Macaca mulatta* за счет IgG1, на фоне отсутствия достоверных изменений содержания в крови иммуноглобулинов IgA и IgM, в результате орального введения пробиотических композиций, содержащих вместе с лактобациллами среду их культивирования;

проведена модификация композиций пробиотиков направленного действия для снижения аллергической реактивности макроорганизма.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены наиболее эффективные варианты пробиотических композиций, физиологически снижающих уровень гистамина в кишечнике и повышающих уровень иммуноглобулинов IgG и IgG1 в крови; варианты

мультиплексного ПЦР-анализа для профилактического обследования животных и диагностики инфекционных заболеваний; разработаны информативные экспериментальные модели *in vitro* и *in vivo* для создания и предварительной оценки свойств пробиотических композиций, предназначенных для физиологической коррекции метаболизма гистамина в желудочно-кишечном тракте (патенты РФ № 2393214, № 2441066, № 2470997, № 2496883) – федеральный уровень внедрения;

определены физиологические показатели пула гистамина в фекалиях, в периферической крови и уточненные физиологические концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови интактных *Macaca mulatta* популяции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (Акт об использовании результатов диссертационной работы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Федерального агентства научных организаций № 99 от 05.04.2016 г.) – межведомственный уровень внедрения;

разработана учебная программа по микроэкологии и гуморальному иммунитету слизистых открытых полостей человека (учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей «Микроэкология и гуморальный иммунитет слизистых открытых полостей человека в норме и при патологических состояниях: учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей», Астрахань – М.: Изд-во АГМА, 2011. – 80 с. – ISBN 978-5-9902543-1-2) – федеральный уровень внедрения;

представлен подход к конструированию пробиотических композиций, способствующий более эффективному применению пробиотиков для снижения аллергической реактивности организма (Акт об использовании результатов диссертационной работы Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора №405-а от 05.07.2016 г.) – межведомственный уровень внедрения.



Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты исследования получены в экспериментах с использованием сертифицированного оборудования и программного обеспечения; при этом применены современные микробиологические, биотехнологические, биологические, иммунологические, биохимические и гистологические экспериментальные методы исследования, а также методы биоинформатики и статистической обработки результатов;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных (1) о роли бактерий биотопов организма в качестве физиологического регулятора уровня гистамина в организме, (2) об увеличении частоты высева штаммов, синтезирующих гистамин, при наиболее часто встречаемых вариантах дисбактериоза кишечника и (3) об иммуномодулирующем влиянии штаммов лактобацилл при оральном поступлении в макроорганизм;

использовано сравнение авторских данных с опубликованными ранее в научной литературе относительно содержания гистамина в кишечнике мышей инбредной линии BALB/c; микробиологических показателей кишечной микрофлоры показателям иммуноглобулинового звена гуморального иммунитета *Macaca mulatta*;

установлено совпадение полученных автором результатов (по содержанию гистамина в кишечнике мышей; по количественному и качественному составу микрофлоры, а также концентрации IgG, IgG1, IgA и IgM в сыворотке крови интактных макак резусов) с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

постановке задач, разработке идеи научных исследований; исследовании динамики показателей титра лактобацилл и уровня гистамина в среде культивирования, активной и титруемой кислотности пробиотических композиций; самостоятельном выполнении экспериментов на мышах и обезьянах с использованием четырех вариантов пробиотических композиций; проведении выравнивания аминокислотных последовательностей Fc фрагментов

иммуноглобулинов IgG1, IgA и IgM человека и макак резусов с построением филогенетических деревьев; проведении статистической обработки полученных данных с использованием методов вариационной и описательной статистики в программной среде Microsoft Excel. Микробиологический посев фекалий обезьян осуществляли в сотрудничестве с заведующей лабораторией инфекционной патологии Научно-исследовательского института медицинской приматологии канд. биол. наук Аршбой И.М. Исследование содержания базофилов в периферической крови макак резусов осуществляли в сотрудничестве с научным сотрудником лаборатории иммунологии и биологии клетки Научно-исследовательского института медицинской приматологии Деменковой Н.П.

На заседании 30.09.2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Рубальскому Е.О. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **18** человек, из них **10** докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из **23** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **17**, против **1**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель

диссертационного совета \_\_\_\_\_ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь

диссертационного совета \_\_\_\_\_ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 30.09.2016 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.

