

Отзыв

официального оппонента

доктора биологических наук, Коршуновой Татьяны Юрьевны,
на диссертационную работу Бажутина Григория Андреевича
«Биодеструкция ибупрофена актиномицетами рода *Rhodococcus*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11. «Микробиология»

Актуальность темы исследования

В настоящее время фармацевтическое загрязнение окружающей среды стоит в одном ряду с такими общемировыми проблемами как изменение климата, истощение природных ресурсов, потеря биоразнообразия, деградация почв и продовольственная безопасность. Интенсивное развитие фармакологической индустрии, увеличение доступности лекарств и постоянно растущее их потребление (в том числе бесконтрольное) наряду со слабо развитой системой управления фармацевтическими отходами, неизбежно приводят к попаданию фармполлютантов в почву, водные объекты, донные отложения и сточные воды. Данные вещества оказывают неблагоприятное воздействие на экосистемы и отдельные организмы даже в относительно невысоких концентрациях.

К числу наиболее распространенных фармполлютантов относится ибупрофен – лекарственный препарат с противовоспалительным, жаропонижающим и обезболивающим действием, который широко применяется в медицине и ветеринарии. Он способен к биоаккумуляции в живых организмах, вызывая многочисленные негативные последствия – окислительный стресс, повреждение молекулы ДНК, подавление активности отдельных ферментов и прочее. В связи с этим возникает необходимость поиска эффективных способов удаления этого загрязнителя из окружающей среды с полным разрушением его структуры.

Важную роль в биологической детоксикации и деконтаминации почвы и воды играют актинобактерии рода *Rhodococcus*, которые повсеместно распространены в различных экотопах и обладают высокоактивными оксидоредуктазами, богатыми адаптивными возможностями в отношении различных ксенобиотиков, а также доказанным потенциалом для биоремедиации объектов, загрязненных фармполлютантами. В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Бажутина Г.А., связанная с исследованием способности актиномицетов к биодеструкции ибупрофена и изучением их адаптивных реакций на присутствие фармполлютанта, несомненно, является актуальной.

Научная новизна

Новизна диссертационного исследования Бажутина Г.А. заключается в следующем:

- впервые показана способность актиномицетов рода *Rhodococcus* из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, реестровый номер УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.iegmccl.ru>) к биодеструкции высоких (100 мг/л) концентраций ибупрофена в присутствии глюкозы и *n*-гексадекана. Наиболее устойчивыми к ибупрофену оказались штаммы, принадлежащие к видам *R. cerastii*, *R. cercidiphyllii* и *R. erythropolis*;

- на примере штамма *R. cerastii* ИЭГМ 1243 выявлено, что наиболее типичными реакциями актиномицетов на воздействие ибупрофена являются изменение электрокинетического потенциала клеток, формирование многоклеточных конгломератов в жидкой среде и изменение относительной площади клеточной поверхности. Указанные реакции рассматриваются в качестве механизмов адаптации актиномицетов к токсическому воздействию фармполлютанта;

- установлено, что процесс биодеструкции ибупрофена катализируется ферментными комплексами, локализованными в цитоплазме клеток;

- описаны пути биодеструкции ибупрофена;

- подобраны условия, ускоряющие метаболизм ибупрофена и сокращающие продолжительность lag-фазы;

- проведена оценка и прогнозирование экотоксичности отдельных метаболитов ибупрофена.

Новизна исследований подтверждена Патентом РФ № 2762007.

Теоретическое и практическое значение работы

Полученные сведения расширяют представление о потенциале актиномицетов в качестве биодеструкторов фармполлютантов. Сведения о полном геноме штамма *R. cerastii* ИЭГМ 1243, способного к полной деградации ибупрофена (100 мг/л) в течение 4-8 суток, внесены в международную базу данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JA1NDD000000000). Определены основные пути разложения ибупрофена через метаболизацию первичных гидроксированных производных. Данные, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, используются при чтении лекций для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета. Информация о штамме-биодеструкторе ибупрофена внесена в базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов для использования в сети Интернет (www.iegmccl.ru/strains/).

Степень обоснованности научных положений и выводов

Диссертация Бажутина Г.А. представляет собой завершенное научное исследование с

четко поставленными целью и задачами. Ее основные положения и выводы базируются на значительном объеме проведенных исследований. Экспериментальный материал изложен последовательно, снабжен информативными иллюстрациями и таблицами. Достоверность полученных результатов подтверждена их верификацией с использованием большого разнообразия современных методов микробиологии, молекулярной биологии, биоинформатики и аналитической химии, характеризующихся высокой специфичностью и воспроизводимостью и выполненных на современном оборудовании, а также статистической обработкой. Выносимые на защиту положения диссертации подробно представлены в многочисленных публикациях в отечественных и зарубежных журналах, а также обсуждены на международных и всероссийских научных конференциях. Таким образом, достоверность результатов исследования, степень обоснованности положений, заключения и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Структура и содержание диссертации, ее завершенность

Диссертация написана по общепринятому плану и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, результатов экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитированной литературы. Работа изложена на 140 страницах, содержит 22 рисунка и 20 таблиц. Список литературы включает 258 источников, из них 42 отечественных и 216 зарубежных.

Во введении обосновывается актуальность выбранной темы, представлены цель, задачи, обозначены научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, указан объем и структура диссертации и ее связь с крупными научными программами, а также отмечен личный вклад автора диссертационной работы.

В литературном обзоре (глава 1) достаточно подробно представлено современное состояние проблемы, которой посвящено исследование, а именно лекарственного загрязнения экосистем. Приводится общая характеристика нестероидных противовоспалительных средств и ибупрофена, как наиболее широко распространенного в различных объектах окружающей среды НПВС. Уделено внимание традиционным методам утилизации фармполлютантов и обосновывается роль бактерий и их сообществ как основных агентов биодеструкции ибупрофена. Показаны перспективы применения родококков для разложения и детоксикации этого ксенобиотика.

Материал, изложенный в главе 2 «Материалы и методы», позволяет получить информацию об объектах и использованных современных микробиологических, молекулярно-генетических, аналитических и биоинформатических методах. Полученные результаты подвергались статистической обработке согласно общепринятым критериям.

Результаты исследований и их обсуждение изложены в главах 3-5, которые посвящены: исследованию способности коллекционных штаммов актиномицетов к биодеструкции ибупрофена; изучению токсичности и свойств продуктов биodeградации ибупрофена; выявлению ответных реакций актиномицетов на токсическое воздействие ибупрофена.

В заключении автор обобщает полученные результаты и обсуждает их наиболее значимые моменты.

Диссертационное исследование завершается выводами, соответствующими поставленной цели и задачам.

Таким образом, диссертация Бажутина Г.А. представляет собой целостное научное исследование, которое содержит результаты, имеющие значительную теоретическую и практическую значимость.

Подтверждение опубликования основных результатов в научной печати.

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, включая 7 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК РФ и международные цитатно-аналитические базы и 4 статьи в других журналах, а также 1 патент РФ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в достаточной степени отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Оценка научной работы соискателя в целом, замечания по работе, вопросы.

В ходе рецензирования диссертационной работы к соискателю появились некоторые вопросы и замечания, которые приведены ниже.

1. Название работы звучит как «Биодеструкция ибупрофена актиномицетами рода *Rhodococcus*», при этом в работе использовалось 190 штаммов, среди которых только 156 относились к вышеупомянутому роду. С какой целью в диссертационное исследование были включены представители других родов микроорганизмов?

2. Чем обусловлен выбор ацетата натрия, глюкозы, олеаноловой, фенилуксусной и гуминовых кислот, а также мясopептoнного бульона, глицерина, пентанола, гексанола и гексадекана в качестве дополнительного источника углерода и энергии при изучении биодеструкции ибупрофена штаммами родококков? Почему первоначальный скрининг микроорганизмов на способность к разложению ибупрофена проводили с использованием именно глицерина как косубстрата?

3. Какое количество ибупрофена и в какой концентрации использовали для оценки фитотоксичности фармполлутанта и продуктов его биоокисления?

4. При какой концентрации ибупрофена проводились эксперименты по определению

электрокинетического потенциала клеток и их каталазной активности?

5. В главе «Материалы и методы» (п. 2.4) указано, что в экспериментах по биодеструкции ибупрофена его вносили в виде стерильного концентрированного водного раствора (1000 мг/л) до конечной концентрации 100 мг/л или 100 мкг/л. Однако при обсуждении результатов этих опытов имелись указания только на одну используемую концентрацию (100 мг/л (0,01%)). Хотелось бы знать, в каких экспериментах ибупрофен применяли в концентрации в 100 мкг/л.

6. В таблице 2 «Селективные биологические методы деструкции ибупрофена» (стр. 43) выделена такая характеристика метода деградации *in situ*, как «Биоразлагаемость загрязняющих веществ и растворимость ибупрофена с геологическими факторами». Что имеется в виду под фразой «растворимость ибупрофена с геологическими факторами»?

7. Стр. 44. Среди недостатков методов биологической очистки от микрозагрязнителей указано, что «(2) некоторые экотоксиканты имеют более низкую степень восприимчивости вовремя биоразложения». Поясните о какой восприимчивости идет речь. Уместно ли употреблять подобный термин, когда речь идет о химических веществах?

8. Стр. 89. «...цитоплазматическая фракция показала низкую (около 3%) способность к окислению ибупрофена по сравнению с растущей культурой...». А какова способность к деструкции соединения у растущей культуры?

9. Раздел 5.3. С чем еще, помимо усиления клеточной агрегации, может быть связано изменение значений дзета-потенциала поверхности клеток бактерий в ответ на присутствие токсиканта?

10. Почему в тексте раздела 5.4. и на рисунке 21, помимо данных по каталазной активности клеток в присутствии ибупрофена показаны и обсуждаются показатели каталазной активности при наличии в среде диклофенака или его смеси с ибупрофеном? В главе «Материалы и методы» (п. 2.9) отсутствует упоминание о том, что при определении каталазной активности будут использованы другие НПВС не на основе ибупрофена. Аналогичный вопрос можно задать и при чтении текста раздела 5.5, посвященного описанию липидных включений в клетках при их культивировании в среде с ибупрофеном, диклофенаком или их смесью.

11. Для каких живых организмов рассчитывались показатели биоконцентрации и биоаккумуляции ибупрофена и его метаболитов? Вероятно, это были рыбы?

Несмотря на выявленные недочеты, вопросы и замечания, диссертационная работа Бажутина Г.А. соответствует предъявляемым критериям и оставляет общее положительное впечатление.

Заключение о соответствии диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции.

Диссертационная работа Бажутина Г.А. «Биодеструкция ибупрофена актиномицетами рода *Rhodococcus*» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлено решение важной научно-практической задачи биологической очистки окружающей среды от такого широко распространенного фармполлютанта как ибупрофен. По актуальности избранной темы, объему выполненных исследований, научной новизне полученных результатов и их практической значимости данная работа соответствует требованиям пп. 9–14. «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Бажутин Григорий Андреевич, заслуживает присуждения ему искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

24 октября 2025 г.

Заведующая лабораторией биотехнологий,
ведущий научный сотрудник УИБ УФИЦ РАН,
доктор биологических наук

Коршунова Татьяна Юрьевна

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УИБ УФИЦ РАН)

450054, г. Уфа, проспект Октября, 69, лит. Е.

Тел./факс: (347) 235-62-47; e-mail: ib@anrb.ru

Подпись Коршуновой Т.Ю. заверяю
Ученый секретарь УИБ УФИЦ РАН
д.б.н., доц. Уразгильдин Р.В.

