

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Червинца Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Гудовой Наталии Владимировны на тему «Изучение микробиоценоза ротоглотки у детей методом микробиом-ассоциированной метаболомики», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 — микробиология

Актуальность проблемы

Тема диссертации Гудовой Наталии Владимировны, посвященной изучению микробиоценоза ротоглотки, актуальна и своевременна. Заболевания респираторного тракта остаются наиболее распространенными уже многие десятилетия вне зависимости от успехов медицинской и биологической наук, достижений клинической и лабораторной диагностики, новых, иногда прорывных, достижений фармации. Борьба с отдельными возбудителями микробного или вирусного происхождения приносит кратковременный успех, но противостоящий возбудитель быстро адаптируется и мутирует, что быстро сводит все достигнутые успехи на нет. Очевидно, что противостоящий нам враг – это сложная, многофакторная система, формировавшаяся многие столетия, и имеющая в своем арсенале большое количество неприятных сюрпризов. В этой связи, предлагаемый подход интегральной оценки микробиоценозов ротоглотки, является вполне логичным, актуальным и перспективным.

Нельзя не отметить современный метод изучения состояния микробиоценоза – микробиом-ассоциированную метаболомику. В рамках концепции этого метода микробиом рассматривается как средство диагностики. По реакции микробиома, а именно по изменению концентраций метаболитов микрофлоры ротоглотки, можно выявить само заболевание до того, как появятся клинические симптомы, и можно оценить динамику развития заболевания. Микробиом-ассоциированная метаболомика является классической ОМИК-технологией, которую относят к разряду прорывных технологий из-за активного использования искусственного интеллекта в распознавании образа заболевания.

Тема диссертации, посвященная системному изучению микробиоценоза ротоглотки у детей методами системной биологии и медицины, является актуальной задачей микробиологии.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты диссертационной работы состоят в том, что в результате проведенных исследований определены основные критерии функциональной активности микробиоценоза ротоглотки. Рассчитаны референсные значения критериев нормального функционального состояния микробиоценоза ротоглотки для детей в возрасте от 4 месяцев до 14 лет. С помощью математического моделирования определены метаболические отпечатки бактериального и вирусного дисбиоза ротоглотки, а также метаболический отпечаток, характерный для часто болеющих детей, находящихся в острой фазе респираторного заболевания и в стадии ремиссии. Новизна и уникальность полученных результатов, подтверждена патентами РФ. Для дальнейших исследований в этом направлении с привлечением широкого круга исследователей создана программа для ЭВМ, на которую также имеется свидетельство о регистрации.

Универсальность предлагаемого подхода для оценки функционального состояния микробиоценозов различных локусов подтверждается тем, что в рецензируемых научных изданиях появляются новые публикации, где исследования в этом направлении продолжаются с другими респираторными патологиями, например, с тонзиллитом, где диссертант и его научный руководитель являются соавторами.

Из всего вышесказанного можно заключить, что метод микробиом-ассоциированной метаболомики является актуальным и перспективным, а его научно-исследовательский потенциал раскрыт далеко не полностью.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность данных, полученных в результате диссертационного исследования Наталии Владимировны, подтверждается большим объемом

фактического материала – 923 образца слюны исследованы бактериологическими, молекулярно-генетическими, биохимическими методами, методом газовой хроматографии и обработаны современными методами статистики и математическим моделированием. В работе использовано сертифицированное оборудование, а для обработки данных применялся пакет официальных прикладных компьютерных программ.

Диссертация, изложенная на 147 страницах и иллюстрированная 26 таблицами и 16 рисунками, имеет традиционное построение, соответствующее ГОСТу – материалы и методы, обзор литературы, три главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список литературы. В списке литературы содержится 178 литературных источников, из которых 96 отечественных и 82 зарубежных.

Следует отметить, что содержание диссертации соответствует специальности: 1.5.11 — микробиология. Автореферат имеет традиционную структуру, отражает основные положения и содержание диссертационной работы, соответствует требованиям ВАК при Минобрнауки России. Замечаний по оформлению автореферата нет.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Значимость диссертационного исследования Гудовой Н.В. для науки и практики заключается в том, что с помощью микробиом-ассоциированной метаболомики рассчитаны новые критерии оценки состояния микробиоценоза ротоглотки. Таким образом, расширяется список критериев персонифицированной медицины и системного подхода к оценке здоровья человека.

В диссертационной работе исследуется группа риска детей, связанная с повторными респираторными инфекциями. Результаты проведенной работы позволят быстрее определять детей, подверженных повышенному риску повторных респираторных заболеваний, что позволит скорректировать для них профилактические мероприятия.

Использование коэффициента уникальности для количественной характеристики дисбиотических нарушений позволяет определить степень влияния возбудителя респираторного заболевания на функциональную активность микробиоценоза ротоглотки в зависимости от его этиологии и локализации очага воспаления. С помощью метода микробиом-ассоциированной метаболомики возможно исследование влияния взаимодействия различных респираторных вирусов на функциональную активность микробиоценоза ротоглотки.

Написана программа для использования микробиом-ассоциированной метаболомики в предиктивной диагностике респираторных заболеваний.

Все вышеперечисленное подчеркивает научную и практическую значимость работы.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Результаты работы Гудовой Н.В. были опубликованы в 7 изданиях, в том числе 3 статьи - в журналах, включенных в перечень ВАК, доложены более, чем на 15 научных конференциях, в том числе с международным участием, по итогам работы было написано 3 патента РФ и 1 программа для ЭВМ, на которые было получено авторское свидетельство.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация Гудовой Наталии Владимировны построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка использованной литературы.

Во **Введении** автор излагает актуальность темы исследования и степень ее разработанности, формулирует цель и задачи исследования, обобщает новизну, теоретическую и практическую значимость работы, описывает методологию и методы собственных исследований, положения, выносимые на защиту, личный вклад в выполнение исследования.

В главе **Обзор литературы**, состоящем из 6 подразделов, Наталия Владимировна подробно останавливается на оценке видового состава микрофлоры ротоглотки человека, этиологии острых респираторных заболеваний у детей, механизмах колонизационной резистентности микроорганизмов нормальной микрофлоры, на роли слюны, как субстрата, аккумулирующего метаболиты микроорганизмов 5 основных локусов ротовой полости. Описываются современные представления особенностей функционального состояния микрофлоры ротоглотки у часто болеющих детей. Автор подробно останавливается на освещении метода микробиом-ассоциированной метаболомики и тонкостях математического моделирования функционального состояния микробиоценоза ротоглотки по концентрациям короткоцепочечных жирных кислот в слюне. Все утверждения имеют ссылки на литературные источники в рецензируемых изданиях как отечественных, так и зарубежных авторов.

Литературный обзор обобщает заключение, в котором ещё раз подчеркивается важность системного подхода к исследованию функционального состояния микробиоценоза ротоглотки для предупреждения и диагностики респираторных заболеваний с применением ОМИК-технологий.

Раздел **Результаты собственных исследований** включает 3 главы.

В первой главе собственных исследований автор исследует функциональную активность микрофлоры ротоглотки в отсутствии острых и хронических респираторных заболеваний. Выделяются 3 возрастные группы с постоянными средними значениями показателей функциональной активности и рассчитываются референсные значения нормального состояния микробиоценоза для детей с помощью математической модели бинарной классификации – ROC-анализа. Определяется качество классификации, прогностическая точность критериев и делается вывод о наиболее специфичных и чувствительных критериях функциональной активности нормального микробиоценоза ротоглотки.

В следующих подразделах этой главы автор описывает расчеты метаболических профилей дисбиоза ротоглотки, связанного с высокой бактериальной колонизацией, присутствием респираторного вируса, принадлежностью ребенка к группе часто болеющих в острой фазе респираторного заболевания и в стадии ремиссии. Все четыре математические модели рассчитаны с помощью алгоритма линейного дискриминантного анализа и имеют достаточную статистическую значимость, а также высокую прогностическую точность, специфичность и чувствительность, рассчитанные на обучающей выборке. Последнее означает, что рассчитанные модели не могут использоваться с целью диагностики в деятельности врача, ведущего прием, потому что без прохождения процедуры валидации не обладают достаточной устойчивостью и являются пилотными вариантами модели.

Во второй главе собственных исследований, с помощью полученных критериев функциональной активности микробиоценоза ротоглотки и результатов математического моделирования исследуются группы пациентов, находящиеся в стационаре детской клинической больницы с острым бронхитом и острой внебольничной пневмонией. Также исследуется та же выборка пациентов, но разделенная на две другие группы - эпизодически и часто болеющие дети. По результатам исследований убедительно доказывается адекватность расчетов частот встречаемости дисбиозов ротоглотки по математическим моделям функциональной активности микробиоценоза ротоглотки. Также благодаря предложенным автором критериям расширяются возможности изучения механизмов развития респираторных заболеваний. С помощью метода микробиом-ассоциированной метаболомики было показано, что респираторный вирус существенно усиливает дисбиоз ротоглотки. Метод микробиом-ассоциированной метаболомики, благодаря более высокой чувствительности, позволяет выявить различия функциональной активности микрофлоры ротоглотки между группами часто и эпизодически болеющих детей в острой фазе респираторных заболеваний. Исследования методом микробиом-ассоциированной метаболомики взаимодействия респираторных вирусов

показало, что ассоциация *Epstein-Barr virus* с другими респираторными вирусами усиливает функциональную активность других респираторных вирусов, а ассоциация *H.adenovirus* с другими респираторными вирусами меняет метаболический профиль микробиоценоза ротоглотки таким образом, что действие вируса ослабевает. Представленные данные убедительно показывают, что использование микробиом-ассоциированной метаболомики является перспективным для исследований клинико-лабораторного течения заболеваний, исследований микробиоценозов и вирусологических исследований.

В третьей главе собственных исследований описаны 2 варианта компьютерной программы предиктивной диагностики, в основе которых были положены классификационные уравнения математических моделей, рассчитанных в рамках работы над настоящей диссертацией. Представлены алгоритмы расчета, задействованные в программе, текст программы, скриншоты программ, а также их аннотации.

В разделе **Заключение** Гудовой Н.В. осуществляется сравнительный анализ результатов диссертационного исследования с данными литературы.

Выводы содержат ответы на все поставленные задачи, аргументированы, подтверждены достоверными данными, полученными в процессе диссертационного исследования, логическим завершением которого они являются.

Автореферат диссертационного исследования Гудовой Н.В. отражает содержание, результаты работы и выводы в необходимом объеме, полностью соответствует тексту диссертации, в достаточной степени иллюстрирован рисунками и таблицами. Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям ГОСТ 7.0.11.-2011.

Соответствие специальности

По тематике, методам исследования, основным положениям и выводам, сформулированным автором, диссертация полностью соответствует специальности 1.5.11 – микробиология.

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В рукописи имеются отдельные стилистические погрешности и опечатки, которые не снижают научной и практической ценности диссертации.

В процессе ознакомления с диссертационной работой возникли следующие вопросы:

1. Исследуемая группа детей от 4-х месяцев до 14 лет слишком разнородна. Учитывались ли особенности микробиома рта новорожденных детей: доношенные или недоношенные, рожденные естественным или оперативным путем, находились на естественном или на искусственном вскармливании, применялись ли антибиотики, наличие зубов и т.д.? По нашим исследованиям микробиом отличается как по спектру, так и по количеству, метаболическая активность тоже, а ваши показатели нет. Как вы можете это объяснить?

2. Прделана объемная работа на большом фактическом материале, имеющая несомненную новизну, теоретическую и практическую значимость. Планируются ли какие-то методические и/или клинические рекомендации по результатам этого исследования?

3. Полученные в результате выполнения диссертации математические модели выглядят очень перспективными, но без сомнения являются пилотными, то есть не могут использоваться в сфере практического здравоохранения. Планируется ли валидация математических моделей, рассчитанных в рамках диссертации, и, если да, то как планируется организовать эти мероприятия?

Отмеченные вопросы не носят принципиального характера и не снижают положительную оценку представленной диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Гудовой Наталии Владимировны на тему: «Изучение микробиоценоза ротоглотки у детей методом микробиом-ассоциированной метаболомики», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 — микробиология, выполненная под руководством доктора биологических наук Затевалова Александра Михайловича, является научно-квалифицированным трудом,

результатом которого явилось решение актуальной научной задачи – создание системы интегральной оценки микробиоценоза ротоглотки, основанной на применении методов ОМИК-технологий, позволяющих расширить возможности предиктивной диагностики заболеваний респираторного тракта.

По своей актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Гудовой Наталии Владимировны на тему: «Изучение микробиоценоза ротоглотки у детей методом микробиом-ассоциированной метаболомики» отвечает требованиям п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.12.2018 г., № 751 от 26.05.2020 г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Гудова Наталия Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 - микробиология.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России)

170100, Тверская область, г. Тверь, ул. Советская, д.4, +7(4822)321779;
e-mail: chervinets@mail.ru

доктор медицинских наук, профессор

Червинец Вячеслав Михайлович

Подпись В.М. Червинца заверяю:

Ученый секретарь ученого совета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России)

170100, Тверская область, г. Тверь, ул. Советская, д. 4, +7(4822)321779;
e-mail: info@tvgmu.ru

доктор медицинских наук, доцент

Шестакова Валерия Геннадьевна

20.03.23

