

ОТЗЫВ

официального оппонента, главного научного сотрудника, доктора медицинских наук федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии лабораторного отдела НИИ педиатрии Лазаревой Анны Валерьевны на диссертационную работу Отдушкиной Ларисы Юрьевны «Биологические свойства энтерококков в кишечном микробиоме пациентов с туберкулезом легких», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

Актуальность темы исследования

Актуальность представленной работы обусловлена двумя основными моментами. Во-первых, изучение биологических свойств резидентных представителей кишечного микробиома лежит в основе эффективной коррекции микрoэкологических нарушений, ассоциированных с приемом антимикробных препаратов и значительно повышает результативность лечения основного заболевания, снижает тяжесть течения болезни и предупреждает осложнения и рецидивы. Во-вторых, актуальность исследований обусловлена выбранной диссертантом патологией – туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью. Пациенты с туберкулезом легких являются особыми пациентами, так как они длительно принимают противотуберкулезные препараты, находятся в условиях больничной среды, характеризуются коморбидностью, связанной с ВИЧ-инфекцией. Немногочисленные исследования демонстрируют выраженные микрoэкологические нарушения у пациентов с туберкулезом легких, что ведет к снижению приверженности к лечению, а иногда и к вынужденной отмене противотуберкулезных препаратов.

Таким образом, все вышесказанное подтверждает, что актуальность диссертационной работы Отдушкиной Ларисы Юрьевны, посвященной,

изучению биологических свойств и определению роли энтерококков в кишечном микробиоме пациентов с туберкулезом легких, не вызывает сомнений.

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

Диссертационное исследование обладает научной новизной. Автором, показано, что в условиях микроэкологических нарушений, возникающих при приеме противотуберкулезных препаратов, энтерококки обеспечивают колонизацию слизистой кишечника, вносят свой вклад в пул молочной кислоты метаболома кишечного биотопа, определяют уровень грибов *Candida albicans*, за счет воздействия на ключевой фермент антиоксидантной защиты - каталазу.

Показаны трофические взаимодействия энтерококков и бифидобактерий на белковом субстрате, установлены межвидовые партнерские взаимоотношения между *E.faecalis* и *E.faecium* при ферментации углеводов.

Диссертантом научно обоснована возможность оценки у больных с туберкулезом легких положительных эффектов коррекции микробиома пробиотическими бактериями на основе исследования у энтерококков химического состава клеточной стенки, в которой увеличивается в 10-11 раз содержание ненасыщенных жирных кислот и в 3 раза содержание Ca^{2+} и Na^{2+} .

Таким образом, изложенные положения, сформулированные выводы и практические рекомендации, основаны на результатах проведенных автором исследований и обоснованно вытекают из них.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Представлены новые данные о межмикробных трофических и метаболомных взаимодействиях энтерококков с резидентными и факультативными микросимбионтами кишечного микробиома, что дополняет современные представления о механизмах функционирования

микробиоты кишечника при микрoэкологическoх нарушениях, возникающих при различных заболеваниях.

На примере энтерококков получены новые сведения о взаимосвязи химического состава бактериальных клеток и активностью кислотообразования, что может использоваться в биотехнологических процессах для поиска производственных штаммов.

Результаты по исследованию биологических свойств (адгезия, кислотообразование, факторы инвазии) микроорганизмов рода *Enterococcus* у пациентов с туберкулезом легких, могут служить основой для разработки системы биомаркирования штаммов при противотуберкулезной терапии. Также эти данные могут применяться для оценки типа симбиотических связей микробиоты с макроорганизмом и для оценки рисков развития гнойно-воспалительных осложнений эндогенного генеза.

Предложения по предупреждению развития гастроинтестинального синдрома у пациентов с туберкулезом легких и множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, основанные на персонифицированном исследовании микробиома и назначении при противотуберкулезной терапии бактериальных препаратов, корректирующих микробиоту, внедрены в работу Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра имени И.Ф. Копыловой (акт внедрения от 03.06.2024).

Разработанные методические рекомендации «Комплексная оценка функциональных свойств энтерококков в кишечном микробиоме», где предложены критерии и методика оценки их роли в кишечном биотопе, внедрены в работу «Института экологии человека» при Федеральном исследовательском центре угля и углехимии Сибирского отделения Российской Академии наук (акт внедрения от 15.05.2023).

Полученные данные и культуры энтерококков используются в образовательном процессе Кемеровского государственного медицинского

университета, о чем свидетельствуют акты внедрения (от 06.06.2023; и от 29.09.2023).

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Степень достоверности, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждена значительным объемом проведенных исследований (135 пациентов, 198 культур энтерококков, более 1000 опытов по изучению биологических свойств и межмикробных взаимодействий), использованием комплекса современных высокотехнологичных физико-химических методов и обосновании полученных выводов с позиций доказательной медицины.

Апробация диссертации проведена на межкафедральном заседании федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 8 от 19.06.2024 г.).

Материалы исследования опубликованы в 15 печатных работах, в том числе в 9 статьях в изданиях, включенных в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ, в одних методических рекомендациях, в 5 тезисах и доложены публично на 5 научно-практических конференциях и конгрессах.

Оценка содержания, завершённости и оформления диссертации

Диссертационная работа Отдушкиной Л.Ю. состоит из введения, обзора литературы, трёх глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Диссертация написана хорошим научным языком на 127 страницах машинописного текста, включает 5 таблиц, 23 рисунка. Список литературы состоит из 130 источников, в том числе 58 отечественных и 72 зарубежных.

Во введении автором освещена актуальность проблемы, вытекающая из анализа данных зарубежной и отечественной литературы, а также степень разработанности темы, цель, задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Сведения о личном вкладе автора и об апробации результатов исследования позволяют объективно оценить объем и глубину исследования.

Материалы и методы описаны полно. Предметом изучения служили биологические свойства и взаимосвязи энтерококков с резидентными и факультативными микросимбионтами кишечного микробиома пациентов с туберкулезом легких при противотуберкулезной терапии. Четко сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

В первой главе представлен обзор литературных данных, посвященный оценке современных знаний о биологии энтерококков и их взаимосвязи с микроорганизмами кишечного сообщества. Также приведены данные о достижениях в исследовании микробиоты и ее коррекции у пациентов с туберкулезом легких. Из анализа литературы автор делает вывод о противоречивых данных по энтерококкам в микробиоме больных туберкулезом, что и позволяет говорить об обоснованности и необходимости исследования и целесообразности поставленных цели и задач.

Во второй главе представлены данные о характере микрoэкологических нарушений у пациентов с туберкулезом легких, проведена оценка влияния коморбидности на изменения в кишечном биотопе. Установлено, что нарушения микробиома присутствуют до начала противотуберкулезной терапии и они переходят в стадию декомпенсации при этиотропном лечении заболевания.

В третьей главе приведен качественный и количественный состав энтерококков, показана стабильность колонизационных и адгезивных свойств у *E.faecalis* при противотуберкулезной терапии. Автором показано отсутствие прямого антагонизма энтерококков к стафилококкам и

дрожжевым грибам, связанное с синтезом лактата. При этом экзометаболиты энтерококков угнетают активность каталазы у грибов *Candida albicans*. В ассоциациях между *E.faecalis* и *E.faecium* регистрируются партнерские межвидовые взаимоотношения, которые обусловлены сходной динамикой употребления глюкозы и уровнем продукции молочной кислоты. Показано, что протеазы энтерококков могут использоваться в синтрофном питании, т.е. для ферментации белоксодержащих субстратов у бактерий без протеолитических свойств, например бифидобактерий.

В четвертой главе описаны клинические и микробиологические результаты приёма больными туберкулезом легких синбиотического препарата, который назначался параллельно с противотуберкулезными средствами. Установлено, что у энтерококков изменялся состав жирных кислот клеточных стенок, также содержание и состав микроэлементов, что позволяет рекомендовать использование химических показателей клеток энтерококков в качестве индикаторов эффективности коррекции микробиоты.

В заключении выделены автором ключевые моменты работы, проведен анализ полученных результатов, отражена их практическая и теоретическая значимость, обоснованы выводы.

Автореферат диссертационной работы Л. Ю. Отдушкиной полностью отражает содержание диссертационной работы.

Соответствие специальности

Диссертационная работа, выполненная Отдушкиной Л. Ю., по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности 1.5.11 Микробиология (медицинские науки) со следующими областями исследований: пункты 13 (симбиотические микробные сообщества, в том числе микробиота человека и животных), 16 (межмикробные взаимодействия, включая синтрофные ассоциации и чувство кворума).

Замечания по диссертационной работе

По тексту встречаются опечатки, нарушения в пунктуации, однако принципиальных замечаний к работе и оформлению текста диссертации Отдушкиной Л. Ю. нет.

В процессе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. В работе показано, что при развитии декомпенсированных микробиологических нарушений увеличивается количество энтерококков с факторами вирулентности. Какие механизмы могут лежать в основе данного феномена?
2. Почему, по Вашему мнению, отсутствует «классическая» кривая роста бифидобактерий при культивировании на продуктах ферментации казеина после воздействия протеолитических ферментов энтерококков?

Заключение

Диссертационная работа Отдушкиной Ларисы Юрьевны на тему «Биологические свойства энтерококков в кишечном микробиоме у пациентов с туберкулезом легких» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, доцента Захаровой Юлии Викторовны и содержит новое решение актуальной научной задачи в области микробиологии – определена роль энтерококков в кишечном сообществе при микробиологических нарушениях у пациентов с туберкулезом легких, а также возможность их использования в качестве индикаторов коррекции микробиома бактериальными препаратами. Диссертационная работа Отдушкиной Ларисы Юрьевны «Биологические свойства энтерококков в кишечном микробиоме у пациентов с туберкулезом легких», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 Микробиология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований полностью

соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 10.02.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62 «О внесении изменений в Положение о присуждении учёных степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а её автор, Отдушкина Лариса Юрьевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии лабораторного отдела НИИ педиатрии федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Ломоносовский проспект, д. 2, стр.1,
Тел.: +7(499)134-53-87

e-mail: lazarevaav@nczd.ru

доктор медицинских наук

Анна Валерьевна Лазарева

Подпись Анны Валерьевны Лазаревой заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Ломоносовский проспект, д. 2, стр.1
Тел.: + 7 (499) 134-30-83

e-mail: info@ncz.ru

доктор медицинских наук,
профессор РАН

13.03.2025



Ирина Валериевна Винярская