

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата медицинских наук, заведующего кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Подопригора Ирины Викторовны 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

Состояние кишечного микробиома при различных заболеваниях, а также роль и функции отдельных бактериальных представителей в многокомпонентном микробном сообществе являются предметом активного междисциплинарного изучения. По результатам исследований последних лет выявилась неблагоприятная тенденция увеличения числа впервые выявленных больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Проблема повышения эффективности проводимой терапии вызывает широкий интерес для предотвращения распространения лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий. Кроме того, развитие гастроинтестинального синдрома при многокомпонентном противотуберкулезном лечении, часто приводит к снижению комплаентности пациентов к терапии, ухудшая прогноз заболевания и повышая риск рецидивирования туберкулеза. В связи с этим требуется разработка персонифицированных подходов в коррекции микрoэкологических нарушений и оценке ее эффективности у больных туберкулезом легких. Роль анаэробной микробиоты - бифидобактерий и лактобацилл - изучена и доказана, мнения об энтерококках расходятся. В связи с этим изучение биологических свойств энтерококков у пациентов фтизиатрического профиля и оценка их роли в микробном сообществе кишечника актуально не только для повышения эффективности коррекции

нарушений микробиоты, но и для улучшения прогноза основного заболевания и его лечения.

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

Научная новизна диссертации заключается в том, что Отдушкиной Ларисой Юрьевной у пациентов с туберкулезом легких впервые охарактеризованы с помощью хроматографических и спектральных методов биологические свойства и характер межбактериальных метаболомных взаимодействий доминирующих видов энтерококков.

Автором изучено видовое разнообразие и адгезивные свойства энтерококков в кишечном микробиоме у пациентов с туберкулезом легких. До начала терапии туберкулеза выявлено доминирование среднеадгезивных штаммов с низкой инвазивностью и кислотообразованием и повышение при противотуберкулезном лечении среди *E. faecalis* числа биовариантов с фосфолипазой и протеазой, что свидетельствует об инфекционном потенциале данного вида энтерококка. При этом автором доказано, что при ферментации углеводов между *E. faecalis* и *E. faecium* формируются партнерские взаимоотношения, проявляющиеся сходной скоростью утилизации субстрата и уровнем продукции лактата, что расширяет данные о роли энтерококков в функционировании кишечного микробиома и метаболома.

Автором установлена антикаталазная активность экзометаболитов энтерококков, снижающих на 46,1% продукцию антиоксидантного фермента у *Candida albicans*, что демонстрирует участие энтерококков в регуляции состояния факультативной кишечной микробиоты.

В ходе диссертационного исследования впервые показаны синтрофные связи между энтерококками и бифидобактериями на белоксодержащих субстратах, основанные на продукции энтерококками метаболитов с протеазной активностью. Показано, что экзоферменты энтерококков по характеру продуктов ферментации имеют схожесть с ферментами группы сериновых протеаз.

Экспериментально показано, что продукты расщепления казеина экзометаболитами энтерококков обладают бифидогенным эффектом.

Сформулированные автором научные положения, выводы и рекомендации научно обоснованы и вытекают из результатов проведенных исследований.

Теоретическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость заключается в том, что представлены данные о трофических и метаболомных взаимодействиях энтерококков с микроорганизмами кишечного сообщества, что дополняет знания о механизмах функционирования микробиома кишечника при различных заболеваниях и о вкладе отдельных симбионтов и их экзометаболитов в жизнедеятельность этого сообщества. Обоснована взаимосвязь химического состава бактериальных клеток с их функциональной активностью.

Практическая значимость диссертационной работы

Практическая значимость работы заключается в том, что результаты по исследованию биологических свойств (адгезия, кислотообразование, факторы инвазии) микроорганизмов рода *Enterococcus* у пациентов с туберкулезом легких, принимающих противотуберкулезные препараты, могут использоваться для прогнозирования развития эндогенных бактериальных осложнений. Изучение состава жирных кислот и элементного состава энтерококков перспективны в качестве маркеров эффективности терапии бактериальными пробиотическими культурами пациентов с инфекционными процессами, а также для отбора перспективных в биотехнологическом производстве штаммов.

По результатам исследования разработаны методические рекомендации «Комплексная оценка функциональных свойств энтерококков в кишечном микробиоме», которые утверждены на областном уровне в Кемеровской области-Кузбассе и внедрены в работу научного учреждения «Институт экологии человека» (акт внедрения от 15.05.2023). Рекомендации по предупреждению развития гастроинтестинального синдрома у пациентов при противотуберкулезной терапии внедрены в практическое здравоохранение (акт от 3.06.2024).

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

Достоверность полученных результатов обусловлена значительном объемом исследования, использованием современных хроматографических, спектральных методов анализа. Изучены биологические свойства у 198 штаммов энтерококков, поставлено *in vitro* 1188 опытов по изучению биологических свойств энтерококков. Полученные результаты обработаны с применением специализированной статистической программы.

Апробация диссертации проведена 19.06.2024 г. на межкафедральном заседании федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 8). Материалы исследования доложены на 5 научно-практических конференциях и конгрессах. Опубликовано 15 печатных работ, в том числе 9 статей в изданиях, включенным в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ.

Оценка содержания, завершённости и оформления диссертации

Диссертация оформлена традиционным образом, состоит из введения, обзора литературы, трёх глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Текст диссертации изложен 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 логично и обоснованно изложена тема исследования, степень её разработанности, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, включены разделы методология и методы исследования, предмет изучения, материал исследования, микробиологические, физико-химические, статистические методы исследования, личное участие автора, приведены основные положения, выносимые на защиту диссертационной работы, степень достоверности и

апробация результатов исследования. Целью исследования было оценить роль энтерококков при микрoэкологических нарушениях кишечного микробиома у пациентов с туберкулезом легких при противотуберкулезной терапии. Для решения поставленной цели автор сформулировал 6 задач, решение которых излагает в 3 главах собственных исследований.

«Обзор литературы» изложен в Главе I, на 19 страницах машинописного текста. Представлен анализ отечественных и зарубежных работ исследователей, посвященных изучению кишечного микробиома у пациентов с множественной лекарственной устойчивостью. Акцентировано внимание, что противотуберкулезная терапия отличается своей длительностью, многокомпонентностью. Приведены данные, что при лечении туберкулеза глубокие микрoэкологические нарушения регистрируют как во время терапевтического цикла (острые эффекты), так и после прекращения терапии (долгосрочные эффекты). Нарушения микробиоты, ассоциированные с противотуберкулезной терапией, ведут к утяжелению течения и рецидивам туберкулеза, к селекции антибиотикорезистентных штаммов микобактерий. Рассмотрены перспективные для фтизиатрических пациентов постбиотики (метабиотики), в частности, индолпропионовая кислота и фенилпропионат. Тем не менее, для дальнейшего поиска эффективных средств и способов коррекции микробных нарушений кишечника необходимо понимание роли отдельных резидентов в микробиоме, в том числе энтерококков. **«Результаты собственных исследований»** представлены в 3 главах.

В главе 2, изложены данные, что еще до начала противотуберкулезной терапии у пациентов регистрируются микрoэкологические нарушения, а коморбидность (туберкулез/ВИЧ) не влияет на степень их выраженности. При приеме противотуберкулезных препаратов развиваются декомпенсированные микрoэкологические нарушения, проявляющиеся тошнотой, метеоризмом и болями в животе.

Глава 3 посвящена изучению биологических свойств энтерококков и взаимодействию с кишечными микросимбионтами при туберкулезной

инфекции. В условиях микрoэкологических нарушений энтерококки поддерживают колонизацию слизистой, участвуют в регуляции уровня *Candida albicans*, проявляя антикаталазную активность. Вырабатываемые протеолитические ферменты энтерококков позволяют бифидобактериям использовать белоксодержащие источники пищи, как источник аминокислот. Между видами *E.faecalis* и *E.faecium* формируются партнерские взаимоотношения при утилизации углеводов, также зарегистрирована сходная скорость утилизации глюкозы и одинаковый уровень продуцируемого лактата.

Глава 4 посвящена изучению энтерококков, как индикаторов положительных эффектов от синбиотикотерапии. Показано, что однократный курс приема бактериальных препаратов позволяет устранить клинические проявления дисбиоза, восстановить количественный уровень лактобацилл, снизить колонизацию грибами *Candida*. Показано, что энтерококки, в виду их неприхотливости, можно использовать как индикаторы положительных эффектов от терапии бактериальными препаратами, так как у них меняется состав жирных кислот, микроэлементный состав клеток и лактатпродуцирующая активность.

В главе «**Заключение**» автор обобщает представленные научные данные, демонстрирует обоснованность полученных выводов и заключений.

Выводы, сформулированные автором, соответствуют задачам исследования. Автором, на основании полученных данных, представлены практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

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: пункт 13 (симбиотические микробные сообщества, в

том числе микробиота человека и животных) и 16 (межмикробные взаимодействия, включая синтрофные ассоциации и чувство кворума).

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по оформлению работы Ларисы Юрьевны Отдушкиной нет. В диссертации имеются отдельные стилистические ошибки и несколько опечаток, которые не снижают ценности исследования.

В процессе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Чем руководствовались при выборе препарата для коррекции микробиоты пациентов с туберкулезом легких?
2. Через какое время проводили исследование кишечного микробиома после курса терапии синбиотиком?

Заключение

Диссертационная работа Ларисы Юрьевны Отдушкиной 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, содержащей новое решение актуальной научной задачи в микробиологии – повышение эффективности коррекции микрoэкологических нарушений для снижения побочных эффектов противотуберкулезной терапии на основе оценки роли энтерококков в микробиоме. Диссертационная работа Ларисы Юрьевны Отдушкиной «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 соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения 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:

Заведующий кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8

Тел. 7 (495) 434-16-22

e-mail: podoprigora-iv@rudn.ru

Кандидат медицинских наук,
доцент

Подопригора Ирина Викторовна

Подпись Подопригора Ирины Викторовны заверяю
Ученый секретарь медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8, корпус 2

Тел. 7 (495) 434-70-01

e-mail: maximova-tv@rudn.ru

кандидат фармацевтических наук,
доцент



Максимова Татьяна Владимировна

10.03.2025