

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Корниенко Елены Александровны на диссертацию Ивановой Анастасии Юрьевны «Модуляция состава и метаболической активности микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических средств в эксперименте», представленную к публичной защите в диссертационном совете 68.1.005.01 при ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы диссертационного исследования:

Микробиота кишечника представляет собой совокупность бактерий, архей, бактериофагов, простейших, вирусов и грибов. Сообщество этих микроорганизмов не просто пассивно населяет желудочно-кишечный тракт, а активно участвует в поддержании гомеостаза целого организма, влияет на энергетические процессы, иммунитет, нейрогенную регуляцию, состояние кишечного барьера. В нормальных физиологических условиях эти процессы поддерживают здоровье организма хозяина, при изменении метаболического баланса, обусловленного нарушением количественного и качественного состава микробиоты, могут оказывать негативное влияние на все органы и системы, способствуя развитию хронического воспаления, метаболического синдрома, иммунопатологических заболеваний, ожирения, нейроэндокринным нарушениям и др. Появление современных молекулярно-генетических методов, в частности, секвенирования, изменило наши представления о составе кишечной микробиоты, но с физиологической точки зрения не столько микробиом, сколько метаболом является определяющим фактором функционального баланса организма. Поэтому современные исследования микробиоты смещают фокус с изучения таксономического состава на оценку ее функциональной активности. Ключевым подходом становится анализ продуцируемых микробиотой метаболитов, которые можно обнаружить в содержимом кишечника, биологических жидкостях (кровь, ликвор, моча) и выдыхаемом воздухе. Эндогенные газы (H_2 , CH_4) являются одними из наиболее важных физиологических микробиологических продуктов, которые могут служить биомаркерами метаболической активности кишечной микробиоты.

Вх. № 92

«24» ноября 2025 г.

ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России

Диссертационный совет

Водород продуцируется исключительно анаэробной ферментацией сложных углеводов микробиотой толстой кишки. В настоящее время есть данные о его антиоксидантном противовоспалительном действии. Метан генерируется метаногенными археями (например, *Methanobrevibacter smithii*) при потреблении H_2 . Учитывая взаимосвязь образования водорода и метана в метаболических процессах кишечника, одновременное определение их концентраций предоставляет более полную картину состояния микробиоты. Несмотря на существующие работы по определению водорода и метана в воздушных пробах и исследованию способов их модуляции, данные исследования остаются немногочисленными и требуют дальнейшего углубленного изучения.

Научная новизна полученных результатов:

Диссертационная работа А.Ю. Ивановой представляет собой многогранное исследование, в котором впервые проведено динамическое изучение и сопоставление таксонометрического состава микробиоты и основных газообразных метаболитов (водорода и метана) и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) на фоне различных воздействий – медикаментозных и диетических. Были получены данные о дифференцированном влиянии различных соединений на состав и функциональную активность микробиоты кишечника. Впервые установлено, что антибиотики по-разному влияют как на состав, так и на функциональную активность микробиома. Терапия рифаксиминем индуцирует перестройку таксономической структуры микробного сообщества и позитивно изменяет профиль газовых метаболитов, повышая продукцию водорода и подавляя образование метана, регистрируемые в выдыхаемом воздухе. То есть, рифаксимин может быть средством полезной модуляции микробиоты кишечника, сохраняющим ее разнообразие и повышающим функциональные свойства. В отличие от рифаксимины, метронидазол не оказывал значимого влияния на газообразование, однако вызывал негативные сдвиги в численности представителей филума Firmicutes и снижал показатели α - и β -разнообразия микробиоты.

В работе А.Ю.Ивановой впервые проведена оценка влияния на микробиоту и ее метаболиты жирорастворимого антиоксиданта коэнзима Q10. Впервые показано, что коэнзим Q10 повышает α -разнообразие микробиоты кишечника и модулирует ее метаболическую активность, усиливая синтез водорода и короткоцепочечных жирных кислот, в частности ацетата и бутирата, и снижает уровень триметиламина за счет изменения представителей филотипа *Firmicutes* (*Lachnospiraceae*, *Lactobacillus*) и снижения протеобактерий.

Автором впервые проведено сравнительное исследование влияния на микробиоту кишечника и ее метаболиты различных жиров: пальмового масла, трансжиров, сливочного масла и заменителя молочного жира «Эколакт». Кроме того, проведена оценка их влияния на основные показатели жирового и углеводного обмена в крови (холестерин, триглицериды, глюкоза), а также впервые изучено состояние кишечного барьера по экспрессии слизистых гликопротеинов в криптах и муцина MUC2. Исследование показало, что, в отличие от трансжиров, жиры, содержащие ненасыщенные жирные кислоты, способствуют усиленной продукции водорода, повышают разнообразие микробиоты и модулируют ее состав (соотношение *Prevotellaceae/Bacteroides*), положительно влияют на жировой профиль сыворотки крови и уровень глюкозы, а также усиливают синтез гликопротеидов слизи и улучшают состояние слизисто-эпителиального барьера толстой кишки.

Позитивное влияние пребиотиков (в частности – фруктоолигосахаридов) на состояние кишечной микробиоты и ее метаболиты известно, но автором впервые показан дозозависимый эффект непереваримых фруктоолигосахаридов (ФОС) на микробное сообщество. Добавка 25% ФОС в рацион стимулировала повышенное образование водорода и снижала уровень метана, в то время как 5% ФОС увеличивала α -разнообразие. В свою очередь, 25% ФОС в корме преимущественно влияло на бета-разнообразие, способствовало повышению количества таких функционально важных бактерий как *Bifidobacteriae*, *Lactobacillus* и *Akkermansia muciniphila*, что указывает на различные механизмы модуляции микробиоты в зависимости от концентрации пребиотика. Автором

установлена корреляция между изменением уровня водорода и метана и определенными группами микроорганизмов.

Известно, что уровень микробных метаболитов после приема пребиотиков зависит не только от вида пребиотика, но и от исходного состава кишечной микробиоты и ее функциональных особенностей. С этой точки зрения, сравнение влияния популярных пребиотиков: лактулозы, гуаровой камеди и инулина на уровень продукции водорода и метана у низкометановых и высокометановых крыс, проведенное автором, также представляется новым и интересным. Исследование показало, что уровень метана повышался только у высокометановых крыс и был максимален после приема инулина, то есть зависел как характера пребиотика, так и от исходной направленности микробного метаболизма. Эти данные подтверждают необходимость индивидуального подхода в выборе пребиотика.

Автором разработан неинвазивный метод регистрации газовых биомаркеров (водорода и метана) в выдыхаемом воздухе, что отражает функциональную активность микробиоты кишечника.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Диссертация А.Ю. Ивановой имеет большое теоретическое и практическое значение для медицины. Результаты исследований демонстрируют возможность целенаправленной модуляции как состава, так и метаболического профиля (водород, метан, КЦЖК) кишечной микробиоты с помощью фармакологических агентов, диеты и пребиотиков. Применение комплексного подхода, объединяющего анализ газовых метаболитов и состава микробного сообщества, позволяет раскрыть новые аспекты взаимодействия микробиоты с макроорганизмом.

Практическая значимость работы заключается в создании экспериментальной установки для дыхательного тестирования на лабораторных животных и апробации методов коррекции микробиоты. Полученные данные обосновывают целесообразность формирования «здоровой» диеты, направленной на улучшение обменных процессов в организме за счет

коррекции микробного метаболизма, а также открывают путь к повышению эффективности терапии за счет учета индивидуальных метаболических особенностей микробиоты, в частности, баланса между водород- и метанпродуцирующими популяциями. Это дает новые возможности для персонализированного подхода в медицине, где выбор диеты, пробиотиков, пребиотиков или лекарств основывается на функциональном статусе микробиоты пациента.

Достоверность результатов диссертационной работы основана на современных методах оценки таксонометрического состава кишечного микробиома и метаболома: высокопроизводительному секвенированию нового поколения 16S-rПНК, аналитическим методам определения в кале КЦЖК, а также модифицированному автором метода регистрации водорода и метана в выдыхаемом воздухе, на большом количестве экспериментов, в том числе – повторных. Обоснованность и достоверность выносимых на защиту положений, выводов и практических рекомендаций обеспечивается репрезентативной выборкой, четким дизайном, современной статистической обработкой результатов (ROC-анализ, индексы Шеннона и Симпсона, анализ микробных сообществ по несходству Брея-Кертиса и др.)

Структура, содержание и оформление диссертации:

Диссертационная работа изложена на 164 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 таблицами и 33 рисунками. Работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, а также выводов, списка литературы и приложения. В списке использованной литературы представлены 31 отечественный и 261 зарубежный источник.

ВВЕДЕНИЕ раскрывает актуальность темы и значимость выбранной проблематики. Сформулированы цели и задачи исследования, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на

защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора в проведенное исследование, а также структура и объем диссертации.

ГЛАВА 1 посвящена глубокому анализ современных научных данных, раскрывающих роль микробиоты кишечника в регуляции физиологических процессов макроорганизма. В разделе, посвященном биомаркерам микробиоты, систематизированы сведения о биохимических путях их образования в желудочно-кишечном тракте и детально охарактеризованы их физиологические функции. Отдельное внимание уделено современным подходам к модуляции как таксономического состава, так и функциональной активности кишечной микробиоты.

ГЛАВА 2 описывает материалы и методы диссертационного исследования. В начале внимание уделено условиям содержания лабораторных животных, описаны лекарственные препараты, которые использовались в работе. Далее представлен дизайн четырех серий эксперимента, выполненных в двух направлениях: на фоне приема фармакологических препаратов (рифаксимины и метронидазола, коэнзима Q10,) и средств с пребиотической активностью (жирных кислот, фруктоолигосахаридов). Подробно описаны способы введения и дозы исследуемых веществ. Для оценки функциональной активности микробиоты проводилась регистрация водорода и метана, включающая все этапы ее выполнения. Параллельно были применены аналитические методы определения коэнзима Q10 и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в биоматериале, морфометрический анализ, а также высокопроизводительное 16S рРНК секвенирование. Выбранные для исследования материалы и методы соответствуют уровню профессиональной подготовки автора, что проявляется в их четком соответствии поставленным целям и задачам работы. Использованная методологическая база обеспечивает доказательность полученных данных, а высокая степень детализации всех этапов гарантирует возможность их полного воспроизведения другими исследователями.

ГЛАВА 3 посвящена описанию результатов исследования и их обсуждению. С учетом выявленной способности рифаксими́на стимулировать генерацию водорода, обладающего антиоксидантной активностью представляется целесообразным проведение клинических его испытаний у людей с повышенным уровнем метаногенной активности для достижения большей защиты при оксидативном стрессе. Рост уровня водорода может рассматриваться как новый, ранее не изученный компонент антиоксидантного действия коэнзима Q10. Длительное применение ненасыщенных жирных кислот оказывает модулирующее воздействие на микробиоту кишечника, проявляющееся в усилении продукции водорода. Данный эффект может рассматриваться как потенциальный механизм защиты при хронических заболеваниях, таких как сердечно-сосудистые патологии и сахарный диабет 2 типа.

В заключении проведена систематизация и обобщение полученных результатов, а также их интерпретации с учетом ранее опубликованных данных научной литературы.

Выводы и практические рекомендации основываются на результатах исследования, обоснованы, аргументированы и согласуются с поставленными целью, задачами и положениями, выносимыми на защиту.

Список литературы состоит из 292 источников, в том числе 31 отечественных и 261 иностранных, включая современные и классические труды по направлению исследования.

Диссертация хорошо иллюстрирована, написана грамотным литературным языком. В конце каждого раздела автор проводит обсуждение полученных результатов и сопоставляет их с данными литературы, объясняя суть каждого показателя.

Соответствие автореферата содержанию диссертации:

Автореферат диссертации Ивановой А. Ю. «Модуляция состава и метаболической активности микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических средств в эксперименте» изложен на 25

страницах, оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11 — 2011, отражает основное содержание диссертации, содержит сведения об актуальности изучаемой проблемы, научной новизне, теоретической и практической значимости работы, методологии и методах исследования, основных результатов с их обсуждением, выводы, практические рекомендации и список работ, опубликованных автором по теме диссертационного исследования.

При ознакомлении с диссертацией и авторефератом принципиальных замечаний не возникло.

Вопросы по диссертационной работе:

1. Учитывая разные механизмы модуляции метаболизма кишечной микробиоты, что вы могли бы рекомендовать людям для профилактики современных социально значимых заболеваний: Ограничение животных жиров? Включение в рацион заменителя молочного жира? Прием пребиотиков? Диету с увеличением пищевых волокон? Индивидуальную оценку уровня водорода и метана в выдыхаемом воздухе с подбором оптимальной индивидуальной диеты?

Заключение:

Диссертационная работа Ивановой Анастасии Юрьевны на тему «Модуляция состава и метаболической активности микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических средств в эксперименте», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача по экспериментальному обоснованию способов модуляции микробиоты кишечника с использованием фармакологических и пребиотических средств.

По своей актуальности, новизне полученных результатов, объему выполненных исследований, методическому уровню, теоретической и научно-

практической ценности диссертационной работы соответствует критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Иванова А. Ю. достойна присуждения искомой степени по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры детских болезней им. профессора И.М. Воронцова ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, доктор медицинских наук (3.1.21. – Педиатрия), профессор



Корниенко Елена Александровна

Подпись доктора медицинских наук, профессора Корниенко Елены Александровны заверяю

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «СПбГПМУ» Минздрава России
д.м.н., профессор

to hear

В.В.Бржеский

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «СПбГПМУ»
Минздрава России)

Адрес организации: 194100, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Адрес электронной почты: spb@gpmu.org

Телефон: +7 (812) 295-06-46; +7 (812) 542-39-83.

Сайт: <https://gpmu.org>



Корнишенок

Нач. отдела депозитаризации СПб ГПМУ

Е.Н. Майорова