

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации Червинца Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Безродного Святослава Леонидовича на тему «Разработка метода микробиом-ассоциированной экспосомики для интегральной оценки нарушений липидного и углеводного обмена у лиц пожилого возраста» по специальности 1.5.11 — Микробиология.

Актуальность проблемы

Актуальность диссертации Безродного Святослава Леонидовича продиктована необходимостью изучения роли микробиома в развитии сахарного диабета 2 типа и дислипидемии у пожилых людей. Сахарный диабет, как одно из возраст-ассоциированных заболеваний очень распространен у пожилых людей и является причиной существенного сокращения продолжительности жизни и снижения качества жизни. В отличие от сахарного диабета 1 типа, который во многом обусловлен генетической предрасположенностью, сахарный диабет 2 типа развивается постепенно из-за неправильного образа жизни и питания. В настоящее время человеку сложно следовать правильному образу жизни, так как многие профессии, связанные с использованием компьютеров, предполагают малоподвижность. Перемещения на автомобиле, коммуникация посредством видеосвязи, досуг у телевизора или у компьютера, также не предполагают мобильности. По данным Всемирной организации здравоохранения от 60 до 85% населения во всем мире не получают достаточной активности. Малоподвижность – это четвертый по значимости фактор, способствующий глобальной смертности. В следствии малоподвижности происходит нарушение расщепления жиров и сахаров, постепенное снижение активности иммунной системы, нарушение кровообращения и развитие системного воспаления. Таким образом, сахарный диабет 2 типа развивается постепенно, перестраивая, всю систему взаимодействия органов человека и микробиома, что требует разработки новых системных средств диагностики и мониторинга здоровья человека.

Развитие системной медицины и биологии сопряжено с развитием ОМИК-технологий, которые с помощью многомерной статистики и

математического моделирования находят новые критерии оценки здоровья человека. В настоящей работе используется сравнительно молодое направление ОМИК-технологий – экспосомика. Это часть метаболома человека, химические соединения, которые не продуцируются человеческими клетками, а привнесены извне. Определяемые в диссертационной работе химические соединения, имеют микробное происхождение и являются компонентами клеточной стенки и мембран микроорганизмов, что позволяет в конечном счете оценить систему взаимодействия макроорганизма и микробиома.

Тема диссертации Святослава Леонидовича, посвященная системному изучению развития сахарного диабета 2 типа и дислипидемии методами системной биологии и медицины в группе риска, связанной с пожилым возрастом, является актуальной задачей микробиологии.

Новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты диссертационной работы состоят в том, что рассчитаны определенные концентрации октадеценового альдегида, характеризующие уровень бактериального плазмалогена и сумма концентраций нескольких гидроксикислот, характеризующих уровень бактериального эндотоксина, которые определяют пороговые значения эндотоксимии, связанной с системным воспалением, сопровождающим сахарный диабет 2 типа. Такой подход к оценке эндотоксимий, связанных с сахарным диабетом 2 типа, ранее нигде не использовался и является новым.

Исследование структуры микробного сообщества по соотношению основных фило типов микробиома возможно по соотношению концентраций *Bacteroides* к *Firmicutes* (*B/F*), рассчитанных на основании концентраций, соответствующих компонентов клеточной стенки микроорганизмов, также является новым.

Использованные математические модели позволяют определять диабет 2 типа и дислипидемию, в том числе при отсутствии клинических проявлений или на ранних стадиях заболевания по соответствующему экспосому также не встречались ранее и являются новыми.

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

Достоверность данных, полученных в результате диссертационного исследования Святослава Леонидовича, подтверждается большим объемом фактического материала – 163 образца крови исследованы биохимическими методами, хромато-масс-спектрометрией и обработаны современными методами статистики и математическим моделированием. В работе использовано сертифицированное оборудование, а для обработки данных применялся пакет официальных прикладных компьютерных программ. Результаты работы были опубликованы в 8 рецензируемых изданиях, обсуждены на 8 научных конференциях, по итогам работы было написано 2 программы для ЭВМ, на которые было получено авторское свидетельство.

Диссертация, изложенная на 150 страницах и иллюстрированная 31 таблицей и 16 рисунками, имеет традиционное построение, соответствующее ГОСТу – Обзор литературы, материалы и методы, две главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. В списке литературы содержится 214 литературных источников, из которых 46 отечественных и 171 зарубежный.

Следует отметить, что содержание диссертации Безродного Святослава Леонидовича на тему «Разработка метода микробиом-ассоциированной экспосомики для интегральной оценки нарушений липидного и углеводного обмена у лиц пожилого возраста», соответствует специальности: 1.5.11 — микробиология. Автореферат имеет традиционную структуру, отражает основные положения и содержание диссертационной работы, соответствует требованиям ВАК РФ Минобрнауки России. Замечаний по оформлению автореферата нет.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Значимость диссертационного исследования Безродного С.Л. для науки и практики заключается в том, что с помощью микробиом-ассоциированной экспосомики, рассчитаны новые критерии оценки состояния микробиома. Таким образом, расширяются критерии персонифицированной медицины и системного подхода к оценке здоровья человека. В диссертационной работе исследуется группа риска, связанная с пожилым возрастом, что позволит проводить мониторинг нарушений углеводного и липидного обмена и будет

способствовать увеличению продолжительности жизни и улучшению ее качества.

Используемые, концентрации микробных маркеров зависят от количества микроорганизмов, от степени воспалительного процесса, проницаемости слизистой оболочки, поэтому несут в себе информацию о большом количестве процессов. Использование методов математического моделирования и многомерной статистики позволяют использовать эту информацию как инструмент для исследования механизма патогенеза заболеваний.

Экспосомика совсем молодое направление ОМИК-технологий, поэтому для того, чтобы эта технология более активно применялась нужно внедрение в практику врачей и исследователей. Диссертантом в соавторстве написана монография - учебное пособие «Предиктивная диагностика сахарного диабета 2 типа и сочетанной дислипидемии по анализу экспосома человека».

Написаны программы для использования микробиом-ассоциированной экспосомики в предиктивной диагностике сахарного диабета 2 типа и дислипидемий.

Все вышеперечисленное подчеркивает научную и практическую значимость работы.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация Безродного Святослава Леонидовича построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и 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 7 подразделов, Святослав Леонидович подробно останавливается на роли микробиоты в нарушении липидного и углеводного обмена. Прежде всего подчеркивается важность системного подхода к исследованию микробиома и роль микробных маркеров

в описании взаимодействия макроорганизма и микробиоты. Для всех микробных маркеров, определяемых в крови, отмечается микроорганизм источник и приводятся литературные ссылки, обосновывающие эти утверждения. Приводятся современные представления о дисбиозе кишечника и изменениях количественного и качественного состава микроорганизмов в кишечнике при различных проявлениях дисбиоза. Большое внимание в литературном обзоре отводится нарушению липидного обмена, биохимическим аспектам развития дислипидемии, влиянию дислипидемии на микробиоценоз кишечника и сочетанию дислипидемии и сахарного диабета. Отдельный раздел посвящен методам статистического анализа и математического моделирования. Литературный обзор обобщает заключение, в котором ещё раз подчеркивается важность системного подхода к исследованию нарушений углеводного и липидного обмена с применением ОМИК-технологий.

Раздел **Результаты собственных исследований** включает 2 главы. В первой главе описывается разработка интегральных критериев оценки микробиома, а во второй главе, с помощью полученных критериев, исследуется микробиом при нарушениях липидного и углеводного обмена. По концентрациям малых молекул микробного происхождения рассчитывается концентрация микробного маркера бактериального плазмалогена, эндотоксина и соотношение концентраций *Bacteroides* к *Firmicutes*. Предлагаемые критерии статистически значимо отличаются при сахарном диабете, поэтому с помощью ROC-анализа рассчитываются их пороговые значения и прогностическая точность.

Далее методом линейного дискриминантного анализа рассчитываются диагностические коэффициенты сахарного диабета и сочетанной дислипидемии. Полученные математические модели СД2 и СЧДЛ характеризуются высокими параметрами прогностической точности. Третья модель линейного дискриминантного анализа, предлагаемая автором, исследует реакцию микробиома на разные проявления дислипидемий. На трехмерной диаграмме убедительно показано, что гипертриглицеридемия как и сочетанная дислипидемия являются более тяжелыми проявлениями дислипидемии, чем гиперхолестеринемия.

В главе 3 исследуются представленность филоотипов при различных сочетаниях сахарного диабета 2 типа и дислипидемии, а также взаимосвязь представленности факторным и корреляционным анализом. Подтверждается ведущая роль в изменении микробиома для филоотипов *Bacteroides* и *Firmicutes*.

Использование результатов математического моделирования показало, что при сахарном диабете 2 типа корреляционная связь уровня глюкозы в крови и деформации микробиома, характерной для сахарного диабета, имеют разную направленность. С помощью рассчитанных концентраций, соответствующих флотипов автор исследует взаимосвязь микробиома и уровней холинстирина, глюкозы и триглицерида. Полученные результаты указывают на связь биохимических показателей нарушений липидного и углеводного обмена с представленностью основных флотипов микробиома человека, рассчитанных по молекулярным маркерам. Представленные результаты соответствуют современным представлениям о взаимодействии микробиома и макроорганизма при нарушениях углеводного и липидного обмена.

В разделе **Заключение** Безродным осуществляется подробный 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 Безродного С.Л. 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, методами исследования, основным положениям и выводам, сформулированным автором, диссертация полностью соответствует специальности 1.5.11 Микробиология (биологические науки).

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

Замечания и вопросы:

1. В соответствии с какими методическими указаниями и рекомендациями проводилось измерение и расчет концентраций химических соединений в крови, а также ассоциация микробных маркеров с микроорганизмами?

2. Были ли запатентованы методы диагностики сахарного диабета 2 типа и дислипидемии у лиц пожилого возраста?

3. Можно ли использовать представленные в диссертации программы для работы в сфере практического здравоохранения, и какие нормативные документы регулируют применение этих программ?

В тексте диссертации встречаются неточности, а некоторые предложения перегружены, что затрудняет ее прочтение.

Заключение

Диссертационная работа Безродного Святослава Леонидовича на тему: «Разработка метода микробиом-ассоциированной экспосомики для интегральной оценки нарушений липидного и углеводного обмена у лиц пожилого возраста», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 — микробиология является научно-квалифицированным трудом, результатом которого явилось решение актуальной народно-хозяйственной задачи – системы интегральной оценки взаимодействия макроорганизм - микробиота, основанную на применении методов ОМИК-технологий, позволяющее эффективно расширить возможности дифференциальной диагностики нарушений углеводного и липидного обмена.

По своей актуальности, новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (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 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 с изменениями, внесенными Постановлением правительства РФ № 751 от 26.05.2020 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а

ее автор Безродный Святослав Леонидович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 - микробиология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании микробиологии и вирусологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Тверской государственной медицинской академии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 3 от 15 марта 2022г.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России)

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

доктор медицинских наук,

профессор

15.03.2022 г.

Червинец Вячеслав Михайлович

Подпись В.М. Червинца заверяю:

Учёный секретарь учёного совета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России)

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

доктор медицинских наук,

доцент

Шестакова Валерия Геннадьевна

