

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора кафедры госпитальной терапии №2 ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) Яковлева Сергея Владимировича на работу Петрова Вячеслава Алексеевича «Исследование микробиоты кишечника при болезни Паркинсона», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 — микробиология

Актуальность темы исследования

Болезнь Паркинсона является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний. Распространенность болезни Паркинсона в популяции увеличивается, учитывая рост продолжительности жизни в развитых странах. Наличие длительного периода бессимптомного течения данного заболевания, необратимость поражения нервной системы при отсутствии этиотропного лечения делают актуальным поиск новых подходов к диагностике данного заболевания, особенно на ранних, в том числе и на доклинических стадиях заболевания.

Ввиду того, что нейродегенеративный процесс при болезни Паркинсона возникает не только в нейронах черной субстанции головного мозга, но и в периферической нервной системе, в частности в нейронах кишечника, где он наблюдается еще до манифестации основных клинических симптомов, актуальной задачей является изучение и идентификация новых биомаркеров заболевания, связанных с поражением нервного аппарата кишечника. На данный момент, организм человека рассматривается в рамках симбиотических отношений с населяющими его сообществами микроорганизмов. Прочные физиологические связи между макроорганизмом и микробиотой позволяют предположить наличие параллельных изменений в составе микробиоты при нейродегенеративном поражении кишечника. По этой причине исследование состава микробиоты кишечника при болезни Паркинсона является актуальной задачей, решение которой позволит как расширить перечень потенциальных биомаркеров данного заболевания, так и углубить знания об его этиологии и патогенезе.

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

Диссертационная работа Петрова В.А. выполнена на высоком методическом уровне. Обоснованность сформулированным автором научных положений, выводов и практических рекомендаций определяется достаточной выборкой – 93 пациента болезнью Паркинсона, 33 пациента с другими неврологическим заболеваниями в качестве группы сравнения, и 66

пациентов группы здорового контроля., а также соответствием использованных в работе методов поставленной цели и задачам. Автор использовал в работе наиболее современные ДНК методики, применяемые в молекулярной микробиологии: ампликонное секвенирование микробиоты по маркерному фрагменту V3-V4 гена бактериальной 16S рРНК согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part #15044223 Rev. B), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq. Расчет индексов разнообразия проводился с использованием программного обеспечения QIIME 1.9.1. Для оценки α -разнообразия рассчитывались индексы Шеннона, Chao1 и общего числа ОТЕ при прореживании данных до 1800 ОТЕ/образец. Для расчета индекса β -разнообразия значения представленности операционных таксономических единиц нормализовали при помощи алгоритма CSS. Поиск различий в таксономическом составе микробиоты кишечника проводили при агрегации ОТЕ по отдельным таксономическим уровням.

Интерпретация и обсуждение полученных результатов выполнены на основании изучения большого количества отечественных и зарубежных литературных источников. Выносимые на защиту положения обоснованы автором и дают полное представление о концепции работы. Выводы полностью соответствуют цели и задачам, убедительно аргументированы, основаны на результатах проведенного исследования.

Таким образом, задачи, научные положения, выводы и практические рекомендации данной диссертационной работы являются обоснованными и достоверными.

Достоверность и научная новизна полученных результатов

Достоверность полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертационной работе, основывается на достаточном объеме материала на экспериментальном этапе исследования; применении современных экспериментальных методик; корректном статистическом анализе. Результаты, представленные в виде рисунков и таблиц, в полной мере отражают количественные характеристики исследуемых выборок.

Основные результаты работы изложены в 10 публикациях, среди которых 5 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований. Кроме того, опубликованные статьи входят в базы данных Web of Science и/или Scopus. Результаты работы освещались на Российских и международных конференциях.

Работа имеет несомненную научную новизну, в том числе подтвержденную полученными свидетельствами о регистрации базы данных и программы для ЭВМ. В данной работе впервые осуществлено сравнительное исследование состава микробиоты кишечника у

пациентов в группах здорового контроля, при болезни Паркинсона и других неврологических заболеваниях. На основе изученных закономерностей предложен перечень из 14 микроорганизмов – потенциальных биомаркеров данного заболевания.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Поставленные автором научные задачи и полученные практические результаты имеют важное значение как для фундаментальной и клинической микробиологии, так и для специалистов области неврологии. Практически важно, что автор подробно описал состав кишечной микробиоты у больных болезнью Паркинсона в сравнении со здоровыми лицами и больными другими неврологическими заболеваниями.

Для клинки особенно важным является тот факт, что на основании выявленных автором качественных и количественных особенностей кишечной микробиоты предложена и апробирована математическая модель классификации пациентов с болезнью Паркинсона с высокими показателями точности, чувствительности и специфичности.

На основании полученных результатов автор делает практически важное заключение, что изменения в таксономическом составе кишечной микробиоты, наблюдаемые при болезни Паркинсона, позволяют рассмотреть возможность использования коррекции микробиома с использованием трансплантации микробиоты от здоровых доноров.

Структура и содержание диссертации

Работа изложена на 156 страницах, содержит 35 рисунков и 15 таблиц. Библиография содержит 304 литературных источника, в т.ч. 14 отечественных.

Во введении автор приводит актуальность проблемы, формулирует цель и задачи исследования; также представлена новизна научного исследования, практическая ценность результатов работы; выдвинуты положения, выносимые автором на защиту. Цель и задачи исследования сформулированы корректно.

Первая глава диссертации посвящена обзору источников литературы по проблеме. В разделе освещена информация, касающаяся современных исследований в области метагеномики – методы по изучению микробных сообществ, особенности микробного пейзажа организма человека и его взаимосвязь с состоянием макроорганизма. Особое внимание автор уделил описанию микробиоты кишечника и ее функций, в том числе в рамках оси «мозг– кишечник». Информация, представленная в обзоре литературы, изложена хорошим литературным языком, что свидетельствует о глубокой проработке автором изучаемой темы.

Вторая глава диссертации представляет собой описание материала и методов исследования. Автором приведено краткое описание групп пациентов, принявших участие в исследовании, указаны критерии включения и исключения из исследования. Автор разделяет участников исследования на три группы – пациенты с болезнью Паркинсона, лица с другими неврологическими заболеваниями, здоровые индивиды. Диссертационное исследование является двухэтапным: первый этап включает в себя сравнительный анализ экологических показателей, таксономического и функционального состава микробиоты исследуемых групп пациентов; второй этап заключается в поиске потенциальных биомаркеров болезни Паркинсона в микробиоте кишечника. В исследовании использованы современные методики по культуронезависимому изучению состава микробиоты, статистический аппарат адекватен.

Третья глава диссертации представляет собой результаты собственных исследований с обсуждением. В данном разделе автором приводится информация о технических результатах проведенного секвенирования, указывается таксономический состав микробиоты кишечника обследованных пациентов на различных таксономических уровнях. При сравнительной оценке таксономического богатства состава микробиоты кишечника автором установлено снижение видового богатства микробиоценоза у пациентов с болезнью Паркинсона и лиц с другими неврологическими заболеваниями. При оценке β -разнообразия автором определен вклад диагноза пациентов и возраста в состав кишечной микробиоты.

Далее, автор приводит результаты сравнительного анализа состава микробиоты кишечника пациентов трех групп на различных уровнях таксономической классификации. Анализируя результат, автор выделяет основные тренды в изменении таксономического состава сообществ кишечных микроорганизмов, характерные для болезни Паркинсона. Среди них увеличение представленности потенциально пробиотических бактерий (родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*); рост содержания условно-патогенных микроорганизмов (родов *Desulfovibrio*, *Sphingomonas*, *Klebsiella*); изменения в представленности продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (*Peptoniphilus*, *Eubacterium cylindroides*), а также микроорганизмов с высокой степенью конкордантности (бактерий рода *Christensenella* и археев рода *Methanobrevibacter*). Автором установлен практически важный «провоспалительный» сдвиг в композиции кишечной микрофлоры пациентов с болезнью Паркинсона за счет повышенного содержания условно-патогенных бактерий в кишечной микробиоте, что подтверждает значение показанного ранее эффекта «нейровоспаления» при этой болезни. Провоспалительным эффектам также способствует выявленное автором у пациентов с болезнью Паркинсона увеличение содержания бактерий родов *Desulfovibrio*, *Cloacibacillus*, *Sphingomonas*. Автор приводит результаты реконструкции функционального потенциала кишечной микробиоты, представленные также в сравнительном аспекте по

выделенным группам пациентов, на основании которых автором делается вывод об изменении представленности метаболических путей, связанных с синтезом бутирата, витаминов группы В и витамина К у пациентов с болезнью Паркинсона в реконструированных профилях.

Во второй части главы автор приводит результаты разработки и испытания математической модели для классификации пациентов с болезнью Паркинсона. По результатам ее применения и оценки автором приводится перечень родов микроорганизмов кишечного микробиоценоза, являющихся потенциальными биомаркерами болезни Паркинсона.

В заключении автор резюмирует результат и приводит общую схему возможного участия микробиома в патогенезе болезни Паркинсона. Диссертация завершается выводами, которые указывают на достижение соискателем цели и решение поставленных задач, практическими рекомендациями и перспективами дальнейшей разработки тематики. Работа написана логично, доказательно. Автореферат отражает содержание диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, лишена явных и серьезных недостатков. При подробном ознакомлении с работой возникают некоторые замечания дискуссионного характера: 1). В обзоре литературы, который написан отличным научным языком и свидетельствует о глубоком понимании изучаемой темы, на мой взгляд, непропорционально много места (1/3 обзора) уделено описанию молекулярно-биологическим методам изучения состава микробиоты – изучение методики исследования не входило в перечень задач исследования. 2). В третьей главе результатов исследования желательно было представить хотя бы в основных чертах характеристики пациентов основной группы и групп контроля и сравнения (длительность заболевания, серьезная коморбидность, тяжесть болезни, получаемые фармакологические препараты), так как некоторые заболевания (например, цирроз печени, кариес, атрофический гастрит и др.) и лекарственные препараты могут оказывать влияние на кишечную микробиоту. 3). В автореферате необходимо представить раздел «Практические рекомендации», который присутствует только в тексте диссертации. Кроме того, в тексте диссертации практическая рекомендация №1 является скорее не рекомендацией, а констатацией факта.

В целом диссертация производит хорошее впечатление, принципиальных замечаний нет.

Заключение

Диссертационная работа Петрова Вячеслава Алексеевича «Исследование микробиоты

кишечника при болезни Паркинсона» является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена актуальная задача по изучению микробного сообщества кишечника пациентов с болезнью Паркинсона.

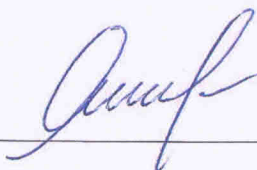
Диссертационная работа В.А. Петрова представляет значительный научный интерес и имеет перспективы практического применения в медицине. Выводы и рекомендации обоснованы, соответствуют цели и задачам исследования. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертационная работа Петрова Вячеслава Алексеевича «Исследование микробиоты кишечника при болезни Паркинсона» полностью соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям. Соискатель заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 — микробиология.

Официальный оппонент

Профессор, доктор медицинских наук (14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология, 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики),

профессор кафедры госпитальной терапии №2 ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Яковлев Сергей Владимирович



Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8. стр.2.

электронная почта: rektorat@sechenov.ru

телефон: 84956097400

17.05.2019

Подпись профессора Яковлева С.В. заверяю

Ученый секретарь Ученого совета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Доктор медицинских наук,

Профессор



Воскресенская Ольга Николаевна