

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, заведующей отделом микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Минздрава России Припутневич Татьяны Валерьевны 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 исследования

В настоящее время благодаря развитию современных культуронезависимых методик оценки биоразнообразия микроорганизмов происходит интенсивное накопление данных о составе микробных сообществ различных биомов, включая и человеческий организм. Тесная функциональная связь между составом микробиоты и работой человеческого организма, а также роль данного симбиоза в поддержании здоровья и развитии заболеваний является предметом активного изучения научных групп по всему миру.

Исследование взаимодействий между микроорганизмами и нервной системой, в частности при различных заболеваниях, является актуальной задачей. Болезнь Паркинсона, ввиду сравнительно высокой распространенности, тяжести течения, отсутствия радикальной терапии и разработанных подходов к ранней диагностике, представляет собой интересную модель такого взаимодействия. Одним из наиболее ранних проявлений заболевания, возникающим еще до клинической манифестации, является поражение нейронов подслизистого слоя кишечника, клеток мейсснерова и ауэрбахова сплетений. При поражении нервной системы кишечника происходит нарушение его работы, перистальтической функции, секреции, трофики, к нарушению работы местного иммунитета и все это может изменить таксономический состав кишечных сообществ микроорганизмов. В

связи с чем исследование состава микробиоты при болезни Паркинсона является актуальной задачей, решение которой позволит получить значимый научный и практический результат.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Диссертация выполнена на высоком методологическом уровне, в соответствии с требованиями ВАК. В исследование было включено 192 человека, что достаточно для формирования групп и проведения статистических расчётов.

В работе представлено два научных положения, что соответствует двум подглавам результатов собственных исследований с их обсуждением. Первое положение касается особенностей состава кишечной микробиоты у пациентов с болезнью Паркинсона, второе положение относится к потенциальной возможности идентификации бактерий-биомаркеров в микробиоте кишечника, специфичных для болезни Паркинсона. Научные положения, выносимые на защиту, в достаточной мере аргументированы и подтверждают достижение цели исследования.

Объем исследования, его методический уровень, анализ и трактовка результата соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Выводы логично вытекают из результатов исследования, соответствуют поставленным задачам.

Достоверность полученных результатов, научных положений и выводов

Диссертационное исследование проведено на достаточном для выполнения поставленных целей и задач научно-методическом уровне. В работе использованы высокоинформативные методики исследования, адекватные для решения поставленных задач. Биоинформатический анализ и статистическая обработка проведены с использованием современных подходов к обработке данных, разработанных специально для применения в этой предметной области. Обсуждение и трактовка результатов исследования

проведены корректно, с опорой, как на классические, так и на современные работы, посвященные данной тематике.

Научная новизна полученных результатов

Научная новизна работы заключается в дизайне исследования – сравнении состава микробиоты кишечника у пациентов в трех группах: здоровых, пациентов с болезнью Паркинсона и лиц с другими неврологическими заболеваниями. Автор работы впервые идентифицирует и описывает изменение в представленности микроорганизмов в виде характерных паттернов, в том числе отмечает ассоциацию между изменением содержания конкордантных микроорганизмов в кишечной микробиоте и наличием болезни Паркинсона. Автором также впервые выявлено нарушение межмикробной кооперации при болезни Паркинсона, установленное при анализе корреляционных сетей микроорганизмов.

Автором впервые были предложены потенциальные микробные биомаркеры болезни Паркинсона, подобранные с учетом не только микробиоты здоровых лиц, но и микробиоценоза кишечника пациентов с другими неврологическими заболеваниями. Дополнительным подтверждением новизны результатов данной работы являются сертификаты о государственной регистрации программного обеспечения и базы данных.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, снабжена 35 иллюстрациями и 15 таблицами. Работа написана в классическом варианте и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 304 литературных источника.

Во введении автор приводит обоснование актуальности исследования, формулирует цель и задачи работы, анализирует новизну исследования, выносит положения на защиту.

В главе «Обзор литературы» приводится информация по проблематике исследования, приводятся те аспекты рассматриваемой проблемы, которые изучены недостаточно.

В главе, посвящённой материалу и методам исследования, приводится подробное описание дизайна работы, используемых экспериментальных, биоинформатических и статистических подходов.

В третьей главе диссертации автор приводит результаты собственного исследования с их обсуждением. При выполнении работы автором было оценено таксономическое богатство микробиоты кишечника у пациентов разных групп. Однако автором были допущены некоторые неточности. Например: на уровне классов у лиц контрольной группы в микробиоте присутствовали *Bacilli* – $2,9 \pm 3,2\%$. Но процент не может быть в итоге отрицательным. По тексту диссертации такие результаты встречаются не раз. На основании оценки индексов α -разнообразия автором был сделан вывод об обеднении состава микробиоты кишечника как у лиц с болезнью Паркинсона, так и у пациентов с другими неврологическими заболеваниями.

Автором была впервые проведена сравнительная оценка таксономического состава микробиоты кишечника в группах здоровых, пациентов с болезнью Паркинсона и другими неврологическими заболеваниями. Оценка особенностей представленности микроорганизмов позволяет заявить о различиях в составе кишечной микробиоты у пациентов разных групп. При этом насколько можно видеть в главе 3.1.2 состав микробиоты кишечника на разных таксономических уровнях, ни на уровне наиболее представленных типов, ни на уровне классов, ни на уровне отрядов, семейств и наиболее распространенных видов статистически достоверных различий между группами выявлено не было, так как по диапазонам «плюс-минус» видно, что все диапазоны перекрываются. Есть ли тогда смысл в рисовании тепловых карт на вышеперечисленных уровнях разнообразия микроорганизмов?

В ходе обсуждения характерных паттернов состава микрофлоры

кишечника автором отмечается изменение в представленности микроорганизмов, ассоциированных с продукцией короткоцепочечных жирных кислот, условно-патогенных бактерий, микроорганизмов с высокой степенью конкордантности, и микробов с потенциальными пробиотическими свойствами у пациентов с болезнью Паркинсона. Также было выявлено нарушение межродовой кооперации, выраженное в уменьшении размеров корреляционных сетей.

Автором также была проведена реконструкция метаболического потенциала кишечной микробиоты пациентов. На основании данных реконструкции сделан вывод об изменении представленности метаболических путей, связанных с синтезом бутирата, витаминов группы В и витамина К у пациентов с болезнью Паркинсона. На основе изученных особенностей таксономического состава кишечной микробиоты автором предложен перечень потенциальных метагеномных биомаркеров болезни Паркинсона, включающий в себя 14 родов кишечных микроорганизмов. Для оценки качества математической модели автором была предусмотрена валидационная выборка, данные из которой не применялись в процессе обучения.

В разделе «Заключение» обобщаются основные положения диссертационной работы и рассматриваются в свете существующих литературных данных. Выводы соответствуют поставленным задачам. Однако в первом выводе отмечается, что у пациентов с болезнью Паркинсона и лиц с другими неврологическими заболеваниями наблюдается снижение таксономического разнообразия кишечного сообщества микроорганизмов по сравнению со здоровым контролем. Это касается только бета-разнообразия? По всем показателям альфа-разнообразия наблюдается перекрывание диапазонов, и вывод о том, что в результате оценки всех индексов альфа-разнообразия найдены значимые различия в таксономическом богатстве метагеномных сообществ кишечника представляется спорным.

Диссертационная работа Петрова Вячеслава Алексеевича «Исследование микробиоты кишечника при болезни Паркинсона» соответствует паспорту

специальности 03.02.03 — микробиология. Основные результаты диссертации изложены в 10 научных работах, среди которых 5 статей опубликованы в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований. Следует отметить, что опубликованные статьи входят в базы данных Web of Science или Scopus. Кроме того, получено свидетельство о регистрации базы данных и свидетельство о регистрации программы для ЭВМ. В автореферате в должной степени отражены основные положения диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В рукописи имеются стилистические погрешности и орфографические ошибки. Стоит отметить, что десятичный разделитель по тексту всей диссертации – не запятая, как принято в русском языке, а точка. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет, однако возникает ряд вопросов дискуссионного характера:

1. Достаточно ли для корректной идентификации видового разнообразия метагенома использовать фрагмент V3-V4 гена 16S рРНК?
2. В ходе работы описываются не все имеющиеся в метагеноме микроорганизмы, а лишь наиболее представленные. Не анализируя представленность минорных видов микроорганизмов, не теряем ли мы потенциально значимую информацию?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Петрова Вячеслава Алексеевича «Исследование микробиоты кишечника при болезни Паркинсона», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 — микробиология является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим новое решение актуальной задачи по изучению микробиоты кишечника пациентов с болезнью Паркинсона.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости

работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 — микробиология.

Официальный оппонент,
доктор медицинских наук, (03.02.03 – микробиология)
заведующая отделом микробиологии,
клинической фармакологии и эпидемиологии
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова»

Минздрава России

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4,

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России

Телефон: +7 495 531-44-44, Электронная почта: info@oparina4.ru

Припутневич Татьяна Валерьевна

03.06.2019

Подпись Припутневич Т.В. заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова»

Минздрава России

Павлович Станислав Владиславович

