

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА,**

доктора медицинских наук, Анны Валентиновны Алешукой на диссертационную работу Кнышовой Лилии Петровны, на тему «Состояние микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикации (Экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

**Актуальность избранной темы исследования.** Согласно результатам последних биомедицинских исследований получены доказательства, подтверждающие связь дисбиотических нарушений микробиоценозов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с широким спектром заболеваний. Доказано, что в современных условиях негативные изменения микробиоты кишечника, снижая детоксикационную функцию индигенной флоры, увеличивают функциональную нагрузку на печень. Как известно, у лиц страдающих алкоголизмом, поражения печени выходят на первое место, но в основных методиках коррекции алкогольной зависимости отсутствуют препараты, направленные на коррекцию изменений кишечной микробиоты.

Изменения микробиоты кишечника под действием хронической алкогольной интоксикации являются малоизученными и целесообразность экспериментальных исследований направленных на выявление нарушений микробиоценоза ЖКТ под действием этанола, не вызывает сомнения. Таким образом, диссертационная работа Кнышовой Л. П., посвященная изучению состояния микробиоты кишечника на фоне хронической алкоголизации организма, является актуальным и обоснованным исследованием.

**Основное содержание работы.** Диссертационная работа Кнышовой Лилии Петровны состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов экспериментального исследования, результатов клинических наблюдений, обсуждения полученных результатов,

выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа изложена на 125 страницах, содержит 7 таблиц и 21 рисунок. Библиографический указатель включает 191 публикаций, из которых 141 принадлежат российским авторам.

**Глава 1** посвящена обзору литературы и состоит из четырех подглав. В первой подглаве обоснована актуальность направления исследования, а именно медико-социальные аспекты алкоголизма. Во второй части главы рассматривается влияние, которое оказывает хроническая алкогольная интоксикация на состояние иммунной системы и метаболические процессы организма. Третья часть литературного обзора посвящена современным представлениям о микробиоценозе ЖКТ и о его роли в метаболизме макроорганизма в норме и при алкогольобусловленной патологии. Четвертая подглава поднимает проблему экспериментального моделирования алкоголизации организма и включает описание методик с их оценкой и характеристикой основных недостатков. Изложенный материал обосновывает необходимость использования выбранной автором стратегии диссертационного исследования.

В главе «**Материалы и методы исследования**» описаны современные и адекватные методы по изучению влияния хронической алкоголизации на неврологический статус и состояние микробиоты кишечника. Эта глава включает в себя описание общей характеристики групп экспериментальных животных. В разделе также представлено описание моделирования хронической алкогольной интоксикации у экспериментальных животных, которые были рандомизированы и разделены по группам согласно возрасту: первая группа – контрольные крысы в возрасте 3-х месяцев, вторая группа – контрольные крысы в возрасте 6-ти месяцев, третья и четвертая группы – подвергнутые экспериментальной хронической алкоголизации крысы в возрасте 3-х и 6-ти месяцев, соответственно. В экспериментальных группах животных в качестве единственного источника жидкости использовался 15%

раствор этанола. В ходе алкоголизации и в конце эксперимента проводилась оценка неврологического статуса, которая полностью соответствовала этиопатогенезу алкоголизма у человека. Далее представлены в полном объеме использованные методы исследования, среди которых классические методы микробиологического, иммунологического, биохимического исследования, а также современные методы статистической обработки и анализа полученных данных.

В **главе 3** представлены результаты собственного исследования автора, которые включали два этапа: моделирование хронической алкогольной интоксикации с учетом критериев достоверности воспроизведения хронической алкоголизации и оценку состояния микробиоты кишечника крыс на высоте алкогольобусловленной интоксикации организма экспериментального животного. Также третья глава содержит подробное описание результатов статистической обработки анализа иммунологических, биохимических и микробиологических показателей, включавшие непараметрические и параметрические методы статистики.

В **четвертой главе** показано, что у лиц с зависимостью от алкоголя, в результате клинических наблюдений были обнаружены изменения подобные, тем, что были получены автором в результате, проведения экспериментального моделирования хронической алкоголизации организма крыс.

В **главе 5**, при обсуждении результатов, полученные данные сопоставлены, автором, с результатами, представленными в научных публикациях, что демонстрирует прекрасное владение данными исследований по изучаемой теме и материалами, полученными им. Наличие отдельных заключений в главах диссертационной работы существенно облегчает анализ полученных данных и структурирует каждый этап исследования.

Полученные результаты позволили автору сформулировать выводы, соответствующие задачам исследования.

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работах, в том числе, 4 статьи в журналах перечня научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Автор имеет 5 актов внедрения основных результатов работы в учебный процесс на кафедрах: микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии; патофизиологии, клинической патофизиологии; фундаментальной медицины и биологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Материал также внедрен в цикл подготовки клинических ординаторов, а также в цикл усовершенствования врачей КЛД на кафедре клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики ФУВ ВолгГМУ.

Результаты проведенного исследования внедрены в научную работу, имеются 4 акта внедрения в лаборатории моделирования патологии; геномных и протеомных исследований ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»; в лабораторию психофармакологии НИИ Фармакологии ВолгГМУ, а также лабораторию иммунологии ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России.

## **Методические рекомендации «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ»;**

### **Рецензенты:**

зав. лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ВолгГМУ, член-корреспондент РАН,  
зав. кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ,  
д.м.н., профессор И. Н. Тюренков

в. н. с. отдела экспериментальной физиологии и фармакологии  
Национального медицинского исследовательского центра имени В. А.  
Алмазова, зав. кафедрой нормальной физиологии  
Первого Санкт-Петербургского гос. мед. унив. Им. Акад. И. П. Павлова,  
к. б. н. Е. В. Лопатина

**Учебно-методическое пособие «ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОТЫ  
КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ  
ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ»;**

**Рецензенты:**

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России,

д. м. н., профессор В. С. Замараев

гл. науч. сотр. лаборатории особо опасных микозов

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, д. м. н, профессор А. В. Липницкий

**Учебное пособие «ОСТРЫЕ И ХРОНИЧЕСКИЕ ОТРАВЛЕНИЯ  
ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ»;**

**Рецензенты:**

зав. кафедрой патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ, д. м. н., профессор Л. Н. Рогова

зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ, д. хим. н, профессор А. А. Озеров

**Учебно-методическое пособие «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ  
ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ»;**

**Рецензенты:**

зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России,

д. м. н., профессор С. В. Клаучек

зав. кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Минздрава России,

д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, И. Н. Тюренков

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на различных российских и международных конференциях, конгрессах и съездах.

Диссертационная работа Кнышовой Л. П. выполнена на высоком современном научном и методическом уровне. В опубликованных работах и автореферате исчерпывающе отражены основные положения и результаты проведенного исследования.

Диссертация, как и автореферат, легко читаются, благодаря систематизации представленного материала и написанию грамотным, доступным для восприятия литературным языком. Иллюстрации также снабжены подробным описанием, что облегчает восприятие достаточно сложного излагаемого материала.

### **Научная новизна исследования.**

1. Впервые проведена разработка способа моделирования хронической алкогольной интоксикации основанного на алкоголизации экспериментального животного 15% этанолом с использованием метода искусственной полидипсии и этап оценки достоверности воспроизведения модели алкоголизации организма с определением срока начала проведения лабораторных исследований.

2. Впервые проведено изучение динамики изменения кишечной микробиоты при экспериментальной хронической алкоголизации. На основании полученных результатов был проведен корреляционный анализ взаимосвязи между содержанием представителей протеолитической и сахаролитической микрофлоры кишечника и концентрациями провоспалительных цитокинов.

3. Впервые были определены клинико-экспериментальные параллели изменения кишечной микробиоты и клинико-лабораторных показателей иммунной системы у экспериментальных животных и лиц с синдромом зависимости от алкоголя. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшего клинического изучения микробиологических показателей, как маркеров, характеризующих патогенетические нарушения в метаболизме лиц с синдромом зависимости от алкоголя.

**Достоверность полученных результатов и выводов.** Диссертационное исследование соответствует принципам доказательной медицины. Достоверность, проведенного экспериментального исследования подтверждает наличие одобрения этического комитета и количество животных, принявших

участие в эксперименте (60 самцов крыс линии Вистар). Также достоверность полученных данных обеспечивается использованием как классических, так и современных средств и методик проведения исследования. В работе приведен подробный многофакторный статистический анализ полученных данных, что свидетельствует о достоверности результатов, полученных автором.

**Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.** В диссертационной работе имеет место высокая степень обоснованности научных положений и выводов, которая реализована адекватным выбором автора как классических, так и современных методов комплексного анализа, достаточным и достоверным экспериментальным материалов, а также проведенной статистической обработкой полученных результатов исследования. В диссертации имеется 7 таблиц и 21 рисунок, иллюстрирующие как исходные данные, так и полученные результаты, с подробным их пояснением и характеристикой. По каждой главе сделаны выводы, что облегчает восприятие излагаемого материала. Выводы полностью обоснованы и их них вполне логично вытекают рекомендации, представленные автором по итогу проведенного исследования.

**Степень достоверности и обоснованности результатов и выводов.** В рамках решения поставленных задач диссертационного исследования автором были использованы современные высокоинформационные методы и материалы. Статистическая обработка, полученных в результате эксперимента данных, в зависимости от вида распределения, осуществлялась с использованием, как параметрических, так и непараметрических методов статистического анализа (пакет статистических программ GraphPadPrism), что не вызывает сомнений и позволяет считать их обоснованными. Многофакторный статистический анализ позволил автору сформулировать выводы и рекомендации, логично вытекающие из проведенного исследования, что позволяет также считать их вполне обоснованными.

**Теоретическая значимость и практическая ценность результатов исследования.** По своей направленности и содержанию диссертационная работа Л. П. Кнышовой является фундаментальным исследованием, результаты которого вносят существенный вклад в понятие этиопатогенеза хронической алкогольной интоксикации и раскрывают микробиологические изменения в составе микробиоценоза кишечника при моделировании хронической алкоголизации. Обнаруженные в ходе проведенной работы изменения состояния микробиоты кишечника открывают новые перспективы для дальнейших глубоких клинических исследований кишечного микробиома, определения микробиологических маркеров, свидетельствующих о существенных патогенетических изменениях организма при хронической алкогольной интоксикации. Результаты микробиологического исследования могут быть использованы при разработке способов коррекции дисбиотических нарушений, отягощающих этиопатогенез хронической алкоголизации как первичного патологического процесса.

### **Вопросы и замечания к работе**

Принципиальные замечания по диссертационной работе Кнышовой Л. П. отсутствуют, за исключением незначительных редакционных, которые не носят принципиального характера и не влияют на высокую оценку представленной диссертации.

Однако в рамках дискуссии перед автором возникает ряд вопросов:

1. Как Вы полагаете, нарушение микробиоты кишечника при хронической алкогольной интоксикации возникает в результате прямого или опосредованного действия этанола?
2. В каких случаях вы применяли многофакторный анализ, и какие параметры были выбраны в качестве группирующих факторов?

Указанные замечания и вопросы не снижают общей положительной оценки диссертации.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Кнышовой Лилии Петровны «Состояние микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикации (Экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научной задачи – установление изменений состояния кишечного микробиома при хронической алкогольной интоксикации, что имеет важное значение для определения тактики лечения хронической алкогольной интоксикации.

По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, а также методическому уровню диссертация Кнышовой Л. П. соответствует квалификационным критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в редакции постановления Правительства РФ № 1093 от 10.11.2017 г.), предъявляемым ВАК Министерства образования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Кнышова Лилия Петровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 микробиология.

Руководитель лаборатории  
вирусологии, микробиологии и  
молекулярно-биологических методов  
исследования ФБУН «Ростовский  
научно-исследовательский институт  
микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, доктор медицинских  
наук по специальности микробиология

Алешукина Анна Валентиновна

344000, г. Ростов-на-Дону,  
пер. Газетный, д. 119

телефон +7(863)234-91-83  
e-mail: [rniimp@yandex.ru](mailto:rniimp@yandex.ru)

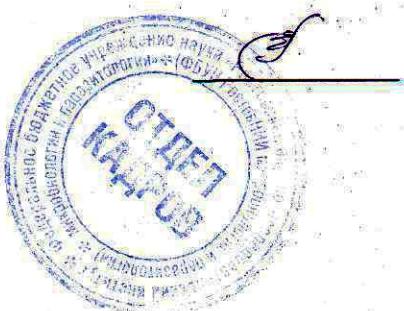
«21» августа 2018 г.

Подпись д.м.н., А. В. Алешкиной заверяю:

Подпись А.В.Алешкиной ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров ФБУН Ростовский научно-исследовательский  
институт микробиологии и паразитологии, Роспотребнадзора,

/В.И.Сечная/



**Сведения  
об официальном оппоненте**

по диссертации Кнышовой Лилии Петровны на тему «Состояние микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикации (Экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

представленной в диссертационный совет Д 208.008.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

№ п/п	Фамилия, имя, отчество	Год рожде- ния, граж- данство	Место основной работы, адрес места работы, телефон, email	Ученая степень, шифр специальность	Ученое звание	Основные работы по профилю диссертации
1	Алешукина Анна Валентиновна	1959 г. российс- кое	Руководитель лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно- биологических методов исследования ФБУН «Ростовский научно- исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, 344000, г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, д. 119 телефон +7(863)234-91-83	Доктор медицинских наук по специальности 03.02.03 микробиология	нет	1. Алешукина, А. В. Местный цитокиновый профиль у взрослых пациентов с острыми кишечными инфекциями и его коррекция с применением иммуномодулирующей терапии [Текст] /А. О. Бусленко, А. В. Алешукина, Н. Ю. Пшеничная, С. А. Хузазова, О. Д. Костенко, Г. В. Гопаца, М. И. Малышева // Эпидемиология и инфекционные болезни.

			rniimp@yandex.ru			<p>Актуальные вопросы.– 2017.– № 4. – С.58-64</p> <p>2. Алешукина, А. В. Острые кишечные инфекции у взрослых: оценка состояния интестинальной микрофлоры и эффективности аминодигидрофталазиндиона натрия в составе их комплексной терапии [Текст] /А. О. Бусленко, Н. Ю. Пшеничная, А. В. Алешукина, А. В. Усаткин, О. Д. Костенко, С. А. Хуказова, И. В. Диценко, Т. В. Усаткина // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2016. № 4. – С. 57-64.</p> <p>3. Алешукина, А. В. Изменения цитокинового профиля при</p> <p>4. экспериментальной кишечной инфекции и ее лечении [Текст] / А. О.</p>
--	--	--	------------------	--	--	---

Бусленко, Н. Ю. Пшеничная, И. С. Алешукина, О. Д. Костенко, С. А. Хуказова, А. В. Алешукина // В книге: Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины Материалы VI Международной научно-практической конференции. – 2015. – С. 241-242.

5. Алешукина, А. В. Кишечная микрофлора при экспериментальной клебсиеллезной инфекции и различные схемы ее лечения [Текст] / А. В. Алешукина, Н. Ю. Пшеничная, А. О. Бусленко, И. С. Алешукина, О. Д. Костенко // В книге: Дифференциальная диагностика, лечение и профилактика актуальных инфекционных и паразитарных болезней Тезисы докладов научно-практической

межрегиональной конференция с международным участием. – 2015. – С. 4-5.

6. Алешукина, А. В. Изменения состава микрофлоры кишечника при экспериментальной клебсиеллезной инфекции у лабораторных мышей и при ее лечении различными иммунобиологическими препаратами [Текст] / А. О. Бусленко, Н. Ю. Пшеничная, А. В. Алешукина // Врач-аспирант. – 2015. – №4(71). – С. 139-144.

7. Алешукина, А. В. Перспективы использования лактоглобулина против условно-патогенных бактерий и сальмонелл [Текст] / А. В. Алешукина, Е. В. Голошва, К. Г. Маркова // В сборнике: Актуальные проблемы диагностики инфекционных

заболеваний (микробиология, биотехнология, эпидемиология, паразитология) Сборник научно-практических работ Межрегиональной научно-практической конференции. Под общей редакцией Г.Г. Харсеевой. – 2015. – С. 9-13.

8. Алешукина, А. В. Изменение профиля провоспалительных цитокинов в кишечнике человека при дисбактериозе на фоне антибиотикотерапии [Текст] / А. В. Алешукина, Э. А. Яговкин, В. М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012.– № 6.– С.81-85

9. Алешукина, А. В. Отношения микроб-хозяин в биотопах толстой кишки при дисбактериозах [Электронный ресурс]: автореф. дис....док-р. мед. наук. – Москва, – 2012.

						10. Алешукина, А. В. Патогенез дисбактериоза кишечника [Текст] / А.В. Алешукина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 3. – С. 74-78
--	--	--	--	--	--	--

Представленные выше данные подтверждаю, согласен на обработку персональных данных.

Официальный оппонент, доктор медицинских наук

  
A. V. Алешукина

Подпись д.м.н. А. В. Алешукиной заверяю:

Подпись А.В.Алешукиной ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии,  
Роспотребнадзора,



  
/В.И.Сечная/