

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, Олега Васильевича Рубальского 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 темы исследования**

Диссертационная работа Л. П. Кнышовой посвящена изучению изменения состояния микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикации в эксперименте.

Известно, что роль микрофлоры человека разнообразна. Наиболее представительной и значимой для человека является микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которая представляет собой одну из наиболее сложных микроэкологических сред с тонко сбалансированными взаимодействиями между защитными системами макроорганизма и микробными ассоциациями. Качественные и количественные изменения в составе микробиоценоза кишечника свидетельствуют о состоянии организма в различных условиях жизнедеятельности, здоровья и болезни. Многие продукты обмена бактерий, обитающих в кишечнике, являются биологически активными веществами для организма человека, выполняя регуляционную функцию, в частности, обеспечивая иммунный гомеостаз кишечника. Нарушения, регистрирующиеся в регуляции указанной системы, приводят к снижению адаптационной функции организма к воздействию факторов внешней среды. Также, различные дисбиотические нарушения в кишечнике могут способствовать отягощению имеющегося патологического процесса за счет нарушения биологических свойств микробных сообществ, чей метаболизм тесно интегрирован в метаболизм человека. В тоже время, внешние факторы, в

число которых входит этанол, могут в значительной степени изменять таксономический и функциональный состав микрофлоры кишечника, способствуя развитию различных заболеваний, в том числе сахарного диабета, неалкогольной болезни печени, ожирения и т.д. Изучение данных процессов имеет важное, значение для понимания механизмов нарушений микробиоты ЖКТ на фоне алкогольобусловленной патологии. В последние годы накоплено немало сведений о влиянии алкоголя на бактериальный рост в кишечнике, однако большинство исследователей не описывают различия между острой и хронической алкогольной интоксикацией. Вместе с тем получение значимой информации о качественных и количественных изменениях при хронической алкоголизации представляется актуальным с точки зрения персонализированного подхода к лечению алкогольобусловленных патологий.

Следует отметить, что при экспериментальном моделировании алкоголизма чаще моделируют острую алкогольную интоксикацию, хроническая же изучена мало. К тому же недостатком существующих методик является отсутствие критериев достоверности воспроизведения хронической алкоголизации организма экспериментального животного. В этом аспекте, проведенное автором разработка способа моделирования хронической алкогольной интоксикации с целью изучения функциональных изменений микробиоты кишечника на фоне хронического воздействия этанола представляет несомненный научный интерес и, безусловно, является актуальным.

### **Научная новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссидентом впервые проведена разработка способа и критериев достоверности моделирования хронической алкогольной интоксикации.

Экспериментальные исследования автора позволили впервые установить динамику изменений микробиоты кишечника экспериментальных животных, подвергнутых хронической алкоголизации. На основании полученных

результатов был проведен анализ изменения состава протеолитической и сахаролитической микрофлоры кишечника. Научную новизну представляют также данные по исследованию возможной корреляции между содержанием представителей кишечной микробиоты и плазменными концентрациями провоспалительных цитокинов.

Полученные данные, подтверждающие изменение состояния микробиоты кишечника как у экспериментальных животных, так и у лиц с синдромом зависимости от алкоголя, определяют перспективность дальнейшего расширенного клинического изучения микробиологических маркеров, характеризующих патогенетические изменения организма при хронической алкогольной интоксикации.

Выявленные изменения и зависимости представителей микробиоты кишечника и провоспалительных цитокинов внедрены в работу по изучению и оптимизации регенераторных процессов и механизмов структурно-функционального восстановления органов при хронической эндогенной интоксикации, которая проводится на базе Волгоградского медицинского научного центра. Результаты работы введены в учебный процесс на кафедрах: микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии; патофизиологии, клинической патофизиологии; фундаментальной медицины и биологии Волгоградского государственного медицинского университета, а также используются на цикле усовершенствования врачей клинической лабораторной диагностики на кафедре клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики факультета усовершенствования врачей данного университета.

### **Общая характеристика работы**

Диссертационная работа Кнышовой Лилии Петровны изложена на 129 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, описание результатов

экспериментального исследования, результатов клинических наблюдений, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы. Работа содержит 7 таблиц и 21 рисунок. Список использованных литературных источников содержит 210 работ как российских, так и зарубежных авторов.

Во **введении** автором обоснована тема диссертационного исследования с учетом современного состояния и степени ее разработанности. Диссидентом четко сформулирована цель исследования, для реализации которой предусматривается решение 4 конкретных задач. Здесь же выделены научная новизна и практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, представлена апробация результатов исследования, сведения о публикациях основных результатов и возможностях их внедрения, отражен личный вклад автора в работу, что отвечает всем требованиям, которые предъявляются к этому разделу диссертации.

В **обзоре литературы** подробно представлены данные аналитического обзора литературы по изучаемой проблеме. Глава состоит из четырех частей, в которых освещается проблема алкоголизма и его физиологическое значение, приводятся последние данные о микробиологических изменениях под действием этанола и роли дисбиотических нарушений в патогенезе алкогольобусловленной патологии. Критический анализ данных, приведенный в обзоре, обосновывает необходимость диссертационного исследования.

В главе «**Материалы и методы исследования**» приведена общая характеристика исследуемых групп экспериментальных животных и исследованного материала. В полном объеме описаны использованные методы исследования, среди которых классические методы микробиологического, иммунологического, биохимического исследования, а также современные параметрические и непараметрические методы статистического анализа, полностью соответствующие характеру проводимых автором исследований. Дано подробное описание моделирования хронической алкогольной

интоксикиации, которое проводилось на базе Волгоградского медицинского научного центра.

**Глава 3**, посвященная описанию полученных результатов собственного исследования автора, состоит из двух основных разделов. Первый раздел включает описание обоснования формирования хронической алкогольной зависимости и динамику изменения соответствующих показателей иммунной системы при моделировании хронической алкогольной интоксикиации. С использованием иммунологического и биохимического методов исследования, а также с учетом неврологической симптоматики, соответствующей этиопатогенезу хронической алкоголизации организма крыс.

Во втором разделе представлена динамика микробиологических показателей при моделировании хронической алкогольной интоксикиации.

Результаты, полученные в ходе проведенного исследования, документированы графиками и таблицами, что подтверждает их объективность. В целом, представленные результаты исследования характеризуются оригинальностью и новизной.

**Глава 4** посвящена анализу результатов клинических наблюдений и подробному описанию выявленных клинико-экспериментальных параллелей, подтвержденных корреляционными взаимосвязями содержания представителей микробиоты кишечника и показателей иммунной системы. Выявлены клинико-экспериментальные параллели изменения изучаемых показателей у лиц с установленным диагнозом хронической алкогольной интоксикиации, заключающиеся в увеличении продукции провоспалительных цитокинов по мере сокращения сахаролитической микробиоты.

В главе 5, при обсуждении результатов проведен всесторонний анализ собственных полученных данных с имеющимися литературными сведениями, которые отражены в положениях, выносимых на защиту и выводах, основанных на комплексном анализе состояния микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикиации, что, в свою очередь,

подчеркивает новизну и ценность диссертационного исследования Л. П. Кнышовой.

**Заключение, выводы и научно-практические рекомендации** основаны на полученных результатах, отражают перспективные направления дальнейшей разработки темы исследования и представлены в соответствии с целью и задачами исследования. Автореферат соответствует материалам диссертационного исследования Кнышовой Л. П. и полностью отражает ее содержание.

#### **Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах**

Материалы проведенного исследования опубликованы в 15-ти печатных работах, в том числе, в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, 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.

#### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет, кроме незначительных редакционных поправок.

Представляется целесообразной конкретизация формулировки второго пункта научной новизны исследований с указанием использования объективных экспериментальных критериев хронизации процесса алкоголизации экспериментальных животных на основе собственного способа моделирования экспериментальной хронической алкогольной интоксикации.

**Заключение.** Диссертационная работа Кнышовой Лилии Петровны «Состояние микробиоты кишечника на фоне хронической алкогольной интоксикации (Экспериментальное исследование)» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для токсикологии и фармакологии – поиска новых подходов и инновационных

препаратов к определению тактики лечения хронической алкогольной интоксикации, с учетом коррекции нарушений микробиоты кишечника.

По своей актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности и новизне результатов, их значимости для науки и практики, полноте опубликованных материалов диссертация Кнышовой Л. П. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., установленным для кандидатских диссертаций, а ее автор, Кнышова Лилия Петровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 микробиология.

Заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Астраханский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук по специальностям:  
03.00.07 – микробиология; 14.00.36 – аллергология и иммунология,  
профессор Рубальский Олег Васильевич

414000, г. Астрахань,  
ул. Бакинская, д. 121  
телефон +7 (8512) 52-41-43  
e-mail: agma@astranet.ru

« 12 » 09 2018 г.



## 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  
наук по специальному совету 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 рождения, гражданство	Место основной работы, адрес места работы, телефон, email	Ученая степень, шифр специальность	Ученое звание	Основные работы по профилю диссертации
1	Рубальский Олег Васильевич	1961 г., РФ	Заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Астрахань, ул. Красноармейская, 10	Доктор медицинских наук, 03.00.07 – Микробиология 14.00.36 – аллергология и иммунология	профессор	1. Рубальский, О. В. Бактериофаги в инфекционной патологии: современная история исследований фагопрофилактики и фаготерапии кишечных инфекций [Текст] / А. В. Алешкин, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев, Х. М. Галимзянов, О. В. Рубальский, Д. Л. Теплов, А. Х. Ахминеева, И. А. Киселева, С. С. Бочкарёва, Е. Е. Рубальская, Е. О. Рубальский, К. Н. Смирнова, Э.

здравоохранения  
Российской Федерации,  
414000, г. Астрахань, ул.  
Бакинская, д. 121  
+7 (8512) 52-41-43  
agma@astranet.ru

- Р. Зулькарнеев, А. Д. ТеплыЙ,  
А. С. Вихрова // Астраханский  
медицинский журнал. – 2016. –  
Т. 11. – № 3. – С. 8-17.
2. Рубальский, О. В.  
Микроиоценозы и здоровье  
человека [Текст] / В. А.  
Алешкин, С. С. Афанаcьев, О.  
В. Рубальский, А. В. Караплов,  
Е. А. Воропаева, М. С.  
Афанаcьев, А. В. Алешкин, Ю.  
В. Несвижский, В. К.  
Гостищев, И. А. Дятлов, И. В.  
Евсегнеева, В. В. Фирстова, Л.  
А. Леванова, Л. И. Кафарская.  
и др. / Москва, 2015.
3. Рубальский, О. В.  
Сравнительный анализ роли  
кальция в изменчивости  
фекального и пристеночного  
микробного сообщества  
желудочно-кишечного тракта  
крыс [Текст] / Ю. В.  
Несвижский, О. В. Рубальский,  
Е. А. Богданова, С. С.

Афанасьев, А. А. Королев, В. В. Зверев, Р. Н. Фетисов // Астраханский медицинский журнал. 2008. Т. 3. № 3. С. 49-53.	<p>4. Рубальский, О. В. Способ прогнозирования дестабилизации микробиоценоза организма млекопитающего [Текст] / С. В. Грачёв, Ю. В. Несвижский, В. А. Алёшкин, С. С. Афанасьев, О. В. Рубальский, Е. А. Богданова, Е. А. Воропаева, Е. О. Рубальский, Е. В. Герасимова [Текст] // Патент на изобретение RUS 2377311 05.03.2008</p> <p>5. Рубальский, О. В. Исследование эффектов пробиотика на основе штамма <i>bifidobacterium bifidum 1c</i> на поведенческие реакции половозрелых мышей [Текст] / Д. Л. Теплый, О. В.</p>
--	--

			<p>Рубальский, Л. Г. Сенторова,      В. П. Косарева, Н. И.      Стемпковская, Ю. З. Бердиева,      Н.А. Пичугина, Т. О. Голикова,      Е. О. Рубальский, В. А.      Алешкин, С. С. Афанасьев, А.      В. Мартынов // Естественные      науки. – 2008.– № 1. – С. 44-      49.</p>

Представленные выше данные подтверждаю, согласен на обработку персональных данных.

 \_\_\_\_\_ О. В. Рубальский

