

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Соловьевой Ирины Владленовны на диссертационную работу Усановой Нонны Альбертовны на тему: «Экспериментальное обоснование использования аутопробиотиков в качестве средств коррекции микрофлоры человека в условиях гермоизоляции и сухой иммерсии», представленной к защите в диссертационный совет 24.1.023.01 на базе ФГБУН ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем» Российской академии наук на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.7 – «Авиационная, космическая и морская медицина»

Актуальность темы диссертации

Актуальность настоящей работы определяется тем, что по мере развития космической деятельности возрастают микробиологические риски, связанные с ослаблением колонизационной резистентности организма космонавтов на фоне увеличения условно-патогенного компонента микробиоты различных биотопов макроорганизма. Одним из основных путей коррекции количественного и качественного состава микробиоценоза является создание фармабиотиков и продуктов питания, содержащих пробиотические микроорганизмы. Исследованиями последних лет доказана высокая эффективность аутопробиотиков для восстановления и/или коррекции индивидуальной микробиоты человека, обусловленная наибольшим сродством аутоштаммов к рецепторам слизистой оболочки кишечника конкретного индивидуума.

Настоящая работа является экспериментальным обоснованием использования аутопробиотиков у человека, находящегося в условиях воздействия факторов космического полета – гермоизоляции, имитированной микрогравитации и воздействия излучения.

Научная новизна и практическая значимость полученных результатов

Впервые продемонстрировано стабилизирующее воздействие аутопробиотиков на количественный и качественный состав кишечной микробиоты, микробиоценозов верхних дыхательных путей и покровных тканей в экспериментах с участием человека, моделирующих воздействие

таких факторов космического полета, как длительная изоляция в гермообъекте и невесомость (эксперимент «сухая иммерсия»), а также животных в экспериментах, симулирующих воздействие изменённого радиационного фона. Проведены сравнительные исследования микробиоты кишечника человека в период длительной изоляции в четырех группах участников эксперимента: 1) без приема пре- и пробиотиков, 2) с приемом пробиотиков на основе производственных штаммов и коллекционных культур, 3) с одновременным приемом пре- и пробиотиков и 4) с приемом аутопробиотиков.

Научно-практическая и теоретическая значимость работы

Разработан эубиотический индекс для оценки динамики изменений количественного и качественного состава микробиоты организма под влиянием факторов измененной среды обитания и использования пребиотических препаратов и пробиотических продуктов питания. Обоснован курс приема аутопробиотиков для профилактики развития дисбиоза и синдрома нарушения колонизационной резистентности у испытуемых гермопомещений в период острой адаптации.

Степень обоснованности и достоверность научных положений,

выводов и заключения

Для обоснования применения аутопробиотиков с целью восстановления микробиоценоза кишечника человека в условиях искусственной среды обитания выполнены:

1. Анализ архивных данных микробиологических исследований микробиоценозов испытуемых в гермокамерных экспериментах продолжительностью от 8 до 20 суток, проведенных в период с 1980 по 1990 годы в Институте медико-биологических проблем. В результате показано, что в период острой адаптации и до окончания изоляционного эксперимента обнаруживаются наиболее выраженные неблагоприятные изменения микробиоты кишечника, свидетельствующие о необходимости использования

профилактических средств для коррекции микробиоценозов верхних дыхательных путей и кишечника.

2. Четыре наземных эксперимента, моделирующих различные условия космического полёта:

– «Гамма-Бриз» – цель эксперимента – оценка состояния животных (макак-резус) при их экспозиции в условиях повышенного радиационного фона. Проведены сравнительные исследования по приему кисломолочных продуктов на основе аутоштаммов лакто- и бифидобактерий, кефира, обогащенного коллекционным штаммом *L. acidophilus* и препарата группы Амбене на основе аминокислоты, стимулирующей рост лакто- и бифидобактерий. Результаты исследований показали, что безусловное преимущество в части коррекции дисбиоза принадлежит аутопробиотикам, которые быстро и эффективно восстанавливают оптимальный микробиоценоз кишечника у обезьян.

– в герметизированном объекте было проведено 2 изоляционных эксперимента: «Марс-105» – 105-дневный и «Марс-500» – 520-суточный, целью которых стал сбор информации о состоянии здоровья и работоспособности экипажа в условиях, приближенных к марсианскому полету. Исследована микробиота ротоглотки, носовых пазух, кожных покровов (подмышечные впадины и промежности) и кишечника. В период экспериментов «Марс-105» и «Марс-500» при использовании пробиотиков на основе аутологичных культур *E. faecium*, нанесенных на угольные таблетки, удалось избежать количественного роста условно-патогенных микроорганизмов в период острой адаптации в течение первых нескольких недель эксперимента. В период приема аутопробиотиков выявлена стабилизация и достаточно высокий показатель облигатной микробиоты – бифидобактерий, лактобацилл, непатогенных энтерококков, снижение и стабилизация условно-патогенной микробиоты в микробиоценозе кишечника и верхних дыхательных путей, что показывает обоснованность приема аутопробиотиков.

– «сухая иммерсия» – исследования состояния человеческого организма в условиях имитированной невесомости. В качестве пробиотиков в данном эксперименте использовался кефир, обогащенный аутоштаммами лактобацилл. В результате зафиксировано интенсивное восстановление анаэробного компонента (лактобацилл и бифидобактерий) микробиоценоза кишечника и нормализация качественного его состава в целом.

Результаты диссертационного исследования логично и последовательно изложены и соответствуют основным положениям, выносимым на защиту. Работа выполнена с привлечением микробиологических и молекулярно-генетических методов с использованием современного высокотехнологичного оборудования. Выводы исследования отвечают целям и задачам, базируются на большом количестве экспериментальных данных и применении современных адекватных методов статистического анализа.

По теме диссертации опубликовано 22 печатные работы, в том числе 2 статьи в журналах из «Белого списка» и перечня ВАК РФ, 7 статей в журналах, индексируемых в базах данных Scopus/Web of Science, 13 тезисов докладов.

Обширный экспериментальный материал, современный уровень проведённых исследований и анализа результатов, апробации работы на международных, всероссийских и ведомственных научно-практических конференциях доказывает достоверность научных положений и выводов.

Структура и объём диссертационного исследования

Диссертационная работа Усановой Н.А. построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы. Список литературы включает 153 источника (80 отечественных, 73 иностранных). Текст диссертации размещён на 161 странице, иллюстрации – 57 рисунков, 29 таблиц, 5 формул.

Во «Введении» диссертации приведены данные об актуальности работы, сформулированы её цель, задачи, научные положения, выносимые на

защиту, научная новизна и практическая значимость исследования, а также сведения об апробации результатов.

В главе «обзор литературы», представлен обзор публикаций на темы: микробиологические риски орбитальных пилотируемых космических полетов; синдром нарушения колонизационной резистентности; микробиота человека (ядро микробиоты и микробно-тканевой комплекс) и ее активные компоненты; протективные группы микроорганизмов у человека; пробиотики, как средство профилактики синдрома нарушения колонизационной резистентности; существующий опыт использования аутопробиотиков в мире; индексы показателей микробиоценоза организма. анализ современных подходов к применению пробиотиков и аутопробиотиков для восстановления микробиоценоза кишечника человека в условиях искусственной среды обитания. Данная часть работы позволила соискателю не только охарактеризовать актуальность сформулированной темы в целом, но и определить основные направления дальнейших исследований.

Глава «материалы и методы исследования» содержит информацию о материалах, объеме, дизайне исследований. Также в ней описаны микробиологические методы изучения микробиоты кишечника, ротовой полости, полости носа, методы выделения аутоштаммов, молекулярно-генетические методы идентификации и оценки патогенетических свойств аутоштаммов лактобацилл и энтерококков. Представлены методы подготовки аутоштаммов для дальнейшего создания персонифицированных пробиотических продуктов питания в форме кисломолочных продуктов, лиофилизатов и угольных таблеток. Описаны использованные методы математической обработки полученных результатов и статистического анализа.

В главе «результаты собственных исследований» содержатся сведения о разработке эубиотического индекса для оценки эффективности использования пробиотиков, который выражается в суммировании положительных и отрицательных количественных изменений протективных и условно-

патогенных групп микроорганизмов и отражает изменения в составе микробиоты. Представлен анализ архивных данных микробиологических исследований микробиоты профессиональных испытателей и волонтеров в гермокамерных экспериментах различной длительности, проводимых в период с 1980 по 1990 годы в Институте медико-биологических проблем, обосновывающий необходимость использования профилактики для коррекции микробиоценоза кишечника и верхних дыхательных путей, особенно в период острой адаптации (первые 7 суток). Представлены экспериментальное обоснование целесообразности использования аутопробиотических средств для стабилизации микробиоценоза организма, полученные в эксперименте «Гамма-Бриз» с макаками-резус в условиях повышенного радиационного фона. Эффективность использования аутопробиотиков в качестве средств коррекции доказана в экспериментах с длительной изоляцией: с 105-суточной изоляцией (Марс-105), исследование в эксперименте длительностью 520 суток (Марс-500) и в эксперименте «Сухая иммерсия».

В разделе «Обсуждение» автор рассматривает дополнительные обстоятельства и основные микробные риски для экипажей, существующие в текущей практике пилотируемой космонавтики и прогнозируемые для космических межпланетных полетов и лунных баз, способствующие развитию изменений микробиоты космонавтов: перекрестный обмен микробиотой членов экипажа, занос микроорганизмов с новыми экспедициями, эволюция земных сапрофитных микроорганизмов и изменение и/или приобретение под воздействием факторов космического пространства новых свойств представителями нормальной микробиоты человека (антибиотикорезистентность, усиление патогенных свойств и т.д.), что повышает риск развития эндогенных инфекций. Все вышеперечисленное вместе с полученными результатами данной работы свидетельствует о целесообразности и эффективности использования аутоштаммов и персонафицированных пробиотиков для коррекции микробиоты при

реализации лунной программы и других долгосрочных полетов.

Выводы, представленные автором, полностью отражают полученные результаты диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам. Текст диссертации достаточно хорошо иллюстрирован, что облегчает восприятие материала.

Обоснованность и достоверность результатов подтверждены достаточным количеством экспериментальных исследований, проведенных с использованием актуальных методов микробиологии, молекулярной генетики, и грамотным применением методов статистического анализа для обработки полученных данных.

Представленные в диссертации результаты опубликованы в научных журналах. Результаты обсуждались на Всероссийских и международных научных конференциях.

Разработанный эубиотический индекс представляет практический интерес в качестве информативного критерия оценки динамики изменений количественного и качественного состава микробиоты макроорганизма.

Автореферат диссертационного исследования Н.А. Усановой соответствует тексту диссертации и отражает основное содержание и результаты работы. Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям ГОСТ 7.0.11-2011.

По итогам ознакомления с текстом диссертации возник ряд замечаний и вопросов:

1. Согласно Государственной Фармакопее, препарат – это всегда лекарственное средство. В своей работе автор использовал только один препарат – Амбен, все остальные использованные в исследованиях пребиотики, пробиотики, аутопробиотики – это продукты питания, к которым относятся и БАД к пище (ТР ТС 021/2011. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции»).

2. В главе «Материалы и методы» макакам-резус посвящен только один абзац, что они взяты из вивария. Весь эксперимент «Гамма-Бриз», который

описан в пункте 3.2.1. и далее собственных исследований, вообще не нашел отражения в этой главе.

3. Ни в обзоре литературы, ни в материалах и методах не описано и нет ссылок на публикации о составе микробиоты кишечника у обезьян.

4. В диссертации отсутствует описание и нет ссылки на метод исследования и критерии оценки состояния микробиоты кожных покровов (подмышечных впадин и промежности).

5. Во всех разделах диссертации встречаются пунктуационные ошибки, опечатки, стилистически неудачные формулировки, в некоторых случаях автор некорректно использует термины.

Все вышеперечисленные замечания не являются принципиальными и не умаляют достоинств и научно-практической ценности выполненной работы.

Заключение

Диссертационная работа Усановой Нонны Альбертовны на тему «Экспериментальное обоснование использования аутопробиотиков в качестве средств коррекции микрофлоры человека в условиях гермоизоляции и сухой иммерсии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является актуальной, законченной, выполненной с использованием современных методов, научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена актуальная научно-практическая задача.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Усановой Н.А. соответствует пунктам 2, 4, 8, 9 паспорта научной специальности 3.3.7 – «Авиационная, космическая и морская медицина», удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9–14 действующего Положения о присуждении ученых степеней, утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017

№ 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 №1786, № 62 от 25.01.2024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), а её автор, Усанова Нонна Альбертовна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.7 – «Авиационная, космическая и морская медицина».

Официальный оппонент

Доктор биологических наук, доцент,

ведущий научный сотрудник –

заведующий лабораторией микробиома человека

и средств его коррекции

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский

институт эпидемиологии и микробиологии

им. академика И.Н. Блохиной»

Федеральной службы по надзору

в сфере защиты прав потребителей

и благополучия человека

Ирина Владленовна Соловьева

«30» июня 2025 г.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора)

Адрес: 603022, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71

E-mail: lab-lb@yandex.ru

Веб-сайт: <https://nniem.ru>

Телефон: (831) 432-87-93, 469-79-01

Подпись Соловьевой И.В. заверяю

Ученый секретарь

ФБУН ННИИЭМ им. академика

И.Н. Блохиной Роспотребнадзора,

кандидат биологических наук



Мария Сергеевна Снегирева