

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Кисляк Оксаны Андреевны на диссертацию Кабуровой Анастасии Николаевны на тему «Связь микробиоты кишечника с новыми молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда и системного воспаления у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20. Кардиология (медицинские науки)

Актуальность темы диссертационной работы

Изучение микробиома человека и одной из его форм микробиоты кишечника на новом уровне занимает исторический период всего около 20 лет. Сам термин микробиом был предложен в 2001 году. Интерес к этой проблеме возник давно, но «научный аппарат» - микробиологический, и, особенно, генетический с возможностью использования методик секвенирования для анализа на метагеномном уровне, возник лишь в последнее десятилетие. За этот период времени удалось установить состав микробиоты кишечника, ее роль и значение, а также уточнить взаимосвязь того или иного микробного пейзажа с риском развития или самими заболеваниями и состояниями – ожирением, метаболическими нарушениями, сахарным диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями, аллергическими, онкологическими болезнями и др.

Большая часть исследований, посвященных изучению кишечной микробиоты (КМ) при сердечно-сосудистых заболеваниях, посвящена уточнению роли КМ при хронической сердечной недостаточности (ХСН) с низкой фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). Получены доказательства, свидетельствующие о возрастающем значении кишечной микробиоты при клинически выраженной ХСН. Установлена взаимосвязь дисбиоза кишечника со степенью активности хронического системного воспаления и тяжестью состояния пациентов с ХСН. Выявлено снижение разнообразия КМ с ростом количества патогенных бактерий, высокий уровень

триметиламин-N-оксида (ТМАО), что было связано с худшим клиническим течением.

Однако состав КМ и уровень микробных маркеров остаются малоизученными в популяции пациентов с ХСН с сохраненной ФВ (ХСНсФВ), даже несмотря на то, что ХСНсФВ в силу своей высокой распространенности и другими особенностями стала одной из знаковых и пока не решенных проблем кардиологии в целом и каждого кардиологического пациента в частности.

В связи с этим можно говорить о том, что диссертационная работа Кабуровой А.Н. выполнена на актуальную тему изучения особенностей течения, причин развития и возможной коррекции клинического синдрома ХСНсФВ с использованием оценки состава КМ и установлением ее связи с состоянием системного воспаления и фиброзом миокарда.

Научная новизна исследования и практическая значимость полученных результатов

Научная новизна исследования очевидна и заключается в подробном, скрупулезном описании автором характерных для пациентов с ХСНсФВ изменений состава КМ в сравнении с пациентами без ХСНсФВ. Среди этих изменений важное место занимает выявленное автором снижение ведущих продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) и изменение представленности условно-патогенных бактерий КМ. Эти данные с использованием метода секвенирования 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) были не только впервые получены в России, но и среди первых в мире установили картину изменений КМ у пациентов с изученным синдромом. Таким образом, автору удалось соединить две линии исследования ХСН : установить состав КМ при ХСНсФВ и дополнить результаты о составе КМ, описанные для больных ХСН с низкой ФВ ЛЖ.

Научная новизна исследования заключается и в том, что в диссертации впервые установлена обратная связь между родом *Faecalibacterium*, который является ключевым продуцентом масляной кислоты в кишечнике, а также

продуцирующим КЦЖК родом *Lachnoclostridium* и объемом внеклеточного матрикса у пациентов с ХСНсФВ.

Практическую значимость имеют результаты работы, которые связаны с использованием метода T1-картирования миокарда. Эти результаты позволили автору наиболее достоверно инструментально оценить выраженность фиброза в основной изучаемой группе пациентов с ХСНсФВ, что, само по себе, представляет большой интерес для использования как в будущих исследованиях, так и в практической кардиологии.

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

Диссертация была выполнена согласно протоколу исследования, который был одобрен на заседании независимого этического комитета ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России.

Исследование было интервенционным и одномоментным. Результаты исследования, безусловно, можно считать достоверными и обоснованными, так как они основаны на использовании широкого круга самых современных методов оценки состава КМ.

Четко определены критерии включения и невключения. Отбор пациентов проводился согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности (2016 г.).

Объем изученных материалов представляется достаточным, а набор исследований, включающий ИФА-анализ провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6), ЛПС, маркеров фиброза сердечной мышцы (PICP, PIIINP и sST2) и ТМАО, исследования для определения циркулирующих микроРНК (miRNA-183-3p, miRNA-193b-3p, miRNA-21-3p и miRNA-545-5p). T1-картирование миокарда в рамках магнитно-резонансной томографии сердца и другие современные высокодиагностические методики.

Научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертации, также являются обоснованными, соответствуют цели и задачам исследования.

Оценка содержания диссертационной работы

Диссертация изложена на 182 страницах, состоит из 4 глав (обзор литературы, материал и методы, результаты исследования, обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, включающего 463 источника, из них 18 отечественных и 445 иностранных. Работа проиллюстрирована 24 таблицами и 9 рисунками.

В разделе «Введение» дано изложение актуальности проблемы, четко обозначены цель и задачи исследования, сформулированы положения, которые автор выносит на защиту.

В обзоре литературы представлены современные данные о ХСНсФВ. Большое внимание уделено патогенезу ХСНсФВ, современным исследованиям лабораторных маркеров, отражающих механизмы развития синдрома. и многообразие фундаментальных данных о составе, метаболитах и маркерах КМ. В свете изложения материала о КМ представлена хронология изучения темы за последнее десятилетие активного развития технологии секвенирования 16S рРНК, четко представлен анализ результатов клинических и фундаментальных исследований состава и метаболитов КМ при ХСН. Автору с успехом удалось выделить наиболее значимые для гипотезы исследования данные и логично их изложить.

Глава «Материал и методы исследования» описывает алгоритм отбора пациентов, детализирует критерии включения и невключения, этапность методов лабораторной и инструментальной диагностики, особенности сбора биоматериала. Детально описаны правила сбора и транспортировки кала, что отражает стандартизацию метода в рамках исследования и может быть использовано в дальнейших научных работах. Дана детализация проведения эхокардиографии, Т1-картирования миокарда, лабораторных методов анализа

изученных маркеров и секвенирования 16S рРНК КМ. Подробно описаны методы статистического анализа данных.

В главе «Результаты исследования» представлен впечатляющий объем данных, которые автор получил при проведении обследования 76 пациентов (42 пациентов с ХСНсФВ и 34 пациентов в контрольной группе). Прежде всего хотелось бы отметить, что, как мне кажется, автор усложнил задачу, включив в сравниваемые группы пациентов, имеющих достоверные отличия по некоторым позициям, в частности по ИМТ, коморбидной патологии, наличию АГ, ФП. При этом по характеристикам питания сравниваемые группы не различались, что дает основания делать вывод о том, что полученные в дальнейшем результаты по изучению КМ при ХСНсФВ и в контрольной группе не зависели от данного фактора.

Хорошо известно, что исследования, посвященные изучению роли КМ при ХСН с низкой фракцией выброса левого желудочка, установили снижение разнообразия КМ с ростом количества патогенных бактерий, активацию системного воспаления и высокий уровень триметиламин-N-оксида, что было связано с худшим клиническим течением. Проведение этих исследований, тем не менее, не ответило на вопрос о причинно-следственных связях ХСН и измененного пейзажа кишечной микрофлоры. По результатам этих исследований складывается мнение, что изменение кишечной микробиоты у пациентов с ХСН может быть вторичным и отражать процессы нарушения микроциркуляции и проницаемости кишечника как органа. Доказательством этой гипотезы является корреляция снижения или повышения ряда микроорганизмов в кишечнике с уровнем NT-proBNP. В то же время имеются интереснейшие данные о возможном влиянии липополисахаридов (ЛПС) на развитие гипертрофии миокарда, функциональную активность фибробластов и развитие апоптоза, что, как нельзя лучше, способно объяснить формирование ХСН.

Наиболее значимыми результатами работы А.Н.Кабуровой можно считать, во-первых, представленный автором исчерпывающий анализ

микробиоты кишечника с определением представленности множества микроорганизмов в группах сравнения. Так, до поправки на коварианты обнаружены статистически значимые различия для представителей *Bacteroidales* ($p=0,011$), *Lactobacillales* ($p=0,044$), после поправки на ковариаты для представителей *Clostridiales* ($p=0,040$) и *Erysipelotrichales* ($p=0,002$). Сохранение статистической значимости различий между группами как до, так и после применения поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты было характерно для порядков *Pseudomonadales* и *Pasteurellales*. Представленность *Bacteroidales*, *Erysipelotrichales* и *Pseudomonadales* отличалась в группе ХСНсФВ в большую сторону, в то время как представленность *Lactobacillales*, *Clostridiales* и *Pasteurellales* в основной группе была статистически значимо ниже контрольной. Эти данные можно считать базовой информацией для дальнейших исследований связи КМ и ХСНсФВ, так как в таком объеме данные о КМ при этом состоянии ранее не существовали.

Во-вторых, значительный интерес вызывает другой блок данной диссертационной работы, который касается определения связей состава КМ и маркеров воспаления и фиброза, а также ЛПС с помощью регрессионного анализа. Интересно, что у пациентов с ХСНсФВ установлены обратный характер связи между *Oscillospira* и IL-6 и прямой характер связи между: *Oscillospira* и высокочувствительным С-реактивным белком; *Haemophilus* и IL-1 β ; *Pseudomonas* и ЛПС. Эти данные приоткрывают информацию о связи системного воспаления с КМ при ХСНсФВ. Несомненную ценность имеют результаты работы по установлению в группе ХСНсФВ родов бактерий, которые были ассоциированы с уровнем маркера дисфункции миокарда – N-концевым предшественником натрийуретического пептида, среди которых были *Lactobacillus*, *Candidatus Soleaferrea* и *Gemmiger*.

Достоинством работы является применение T1-картирования миокарда при магнитно-резонансной томографии, что позволяет достоверно оценить выраженность фиброза миокарда. Автором получены уникальные данные о

связи низкой представленности ряда ключевых продуцентов КЦЖК (*Faecalibacterium* и *Lachnoclstridium*) и ростом объема внеклеточного матрикса, что подтверждает данные о связи КМ с маркерами фиброза миокарда.

В главе «Обсуждение результатов» автор представляет анализ итогов предыдущей главы, проводя сопоставление различных характеристик бактерий с большим объемом полученных результатов, что делает сложный материал понятным для клинициста и четко изложенным. Автор выдвигает гипотезы и предлагает объяснение имеющимся фактам с опорой на современные данные, что подчеркивает ее глубокую погруженность в изучаемую проблему на стыке клинической медицины и фундаментальных данных. В данном разделе автор демонстрирует доскональное знание темы, содержания работы и свои возможности к анализу и синтезу научных положений.

Сформулированные в диссертации выводы и практические рекомендации обоснованы, корректно сформулированы, отражают суть научной работы и соответствуют цели и задачам исследования. Личный вклад автора в выполнении работы значителен.

Автореферат Кабуровой А.Н. полностью соответствует содержанию диссертационной работы. Диссертация соответствует специальности 3.1.20. Кардиология.

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 6 статей в рецензируемых журналах, входящих в Перечень ВАК и международные базы цитирования Scopus и Web of Science. В опубликованных статьях достаточно полно представлены материалы исследования, основные результаты исследования, выводы и заключения диссертанта о трактовке полученных данных.

Принципиальных замечаний по оформлению и содержанию диссертационной работы нет. Есть несколько комментариев и вопросов к диссертанту. Так, хотелось бы уточнить, на основании чего автор указал, что

у пациентов с ХСНсФВ была III стадия АГ, так как это подразумевает наличие ИБС, ЦВБ или других атеросклеротических заболеваний. Соответственно в группе контроля также хотелось бы уточнить наличие полиморбидной патологии. Это необходимо потому, что главной характеристикой основной группы было наличие ХСНсФВ, однако для точного сравнения было бы целесообразно максимально исключить различия по полиморбидности. То же можно сказать и о наличии АГ, так как нетрудно было бы составить группу со 100% представленностью АГ, но без ХСНсФВ, и о наличии ожирения и ФП, тем более, что КМ и ожирение имеют тесные связи, изученные во многих работах, а фиброз миокарда, столь важный для возникновения ФП, также оценивался в ряде работ с определением особенностей КМ. Естественно, при соблюдении полной сравнимости групп было бы больше основания считать различия связанными непосредственно с ХСНсФВ. Однако, учитывая практически пионерский характер работы, эти замечания не могут повлиять на исключительно положительную оценку исследования.

Заключение

Диссертация Кабуровой А.Н. «Связь микробиоты кишечника с новыми молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда и системного воспаления у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Драпкиной Оксаны Михайловны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20. Кардиология, является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором содержится решение актуальной научно-практической задачи медицины – определение особенностей состава КМ и уровня микробных маркеров при ХСНсФВ с дальнейшим определением вклада КМ в системное воспаление и фиброз миокарда, что имеет большое практическое значение для медицинской науки и клинической кардиологии.

Диссертационная работа Кабуровой Анастасии Николаевны по актуальности, научной новизне и практической значимости полностью соответствует всем требованиям ВАК, в т.ч. п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (с изменениями, в действующей редакции постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 05.08.2016 г. №748 и др.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Кабурова А.Н., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20. Кардиология.

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой факультетской терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор


Кисляк Оксана Андреевна

Подпись доктора медицинских наук, профессора О.А. Кисляк «ЗАВЕРЯЮ»:
Ученый секретарь ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
кандидат медицинских наук, доцент




Демина О.М.


_____ 2023 года

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)
Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1
Тел.: +7 595-434-05-43. E-mail: rsmu@rsmu.ru ; Web-сайт: <https://rsmu.ru/>

В диссертационный совет 21.1.039.01 (Д 208.016.01)

при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Петроверигский пер., д.10, стр.3, г. Москва, 101990)

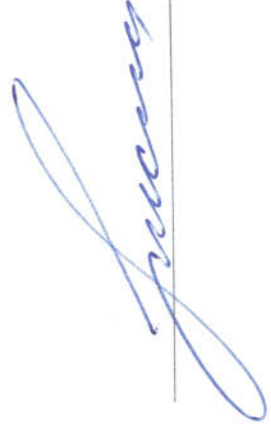
СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте по кандидатской диссертации Кабуровой Анастасии Николаевны на тему: «Связь микробиоты кишечника с новыми молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда и системного воспаления у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка» по специальности 3.1.20. – кардиология (медицинские науки).

Фамилия, Имя, Отчество (полностью), дата рождения, гражданство	Ученая степень, наименование отрасли науки, научная специальность, по которой защищена диссертация, ученое звание (при наличии)	Полное название организации, являющейся основным местом работы официального оппонента (на момент предоставления отзыва)	Занимаемая должность в организации (на момент предоставления отзыва)	Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях (не менее 5-ти работ за последние 5 лет, близкие по теме оппонируемой диссертации)
Кисляк Оксана Андреевна, 19.06.1954 г., Российская Федерация	доктор медицинских наук, 14.01.05 – кардиология, 14.01.04 – внутренние болезни, мед науки, профессор	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1	Заведующая кафедрой факультетской терапии лечебного факультета	<ol style="list-style-type: none"> 1. Мышляева Т.О., Постникова С.Л., Кисляк О.А. Хроническая сердечная недостаточность у женщин. Лечебное дело. 2018(2):59-64. 2. Тарас Е.С., Атаканова А.Н., Эрлих А.Д., Кисляк О.А. Хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса у лиц пожилого и старческого возраста. Лечебное дело. 2020;1:75-81. 3. Кисляк О.А., Мышляева Т. Гендерные особенности сердечной недостаточности. В книге: Сердечная недостаточность: актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики с позиций доказательной медицины:

				<p>Междисциплинарное учебное пособие. Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова. – Москва: 2020. – 203-207 с. – ISBN 978-5-88458-506-5.</p>
				<p>4. Бойцов С.А., Карпов Ю.А., Остроумова О.Д., Агеев Ф.Т., Кисляк О.А., Стрюк Р.И., Недогода С.В., Орлова Я.А. Роль активации симпатической нервной системы в лечении артериальной гипертензии. Фокус на пациента с повышенной частотой сердечных сокращений. Экспертное мнение. Атмосфера. Новости кардиологии. 2020;1:20-28.</p>
				<p>5. Рябова Д.В., Эрлих А.Д., Кисляк О.А. Применение ингибиторов SGLT-2 у пациентов с сердечной недостаточностью: обзор клинических исследований. Лечебное дело. 2020;2:137-146.</p>

Согласна на оппонирование, обработку и размещение моих персональных данных в сети «Интернет».



Подпись официального оппонента,
д.м.н., профессора

О.А. Кисляк

« 15 » 12 2022г.



Подпись доктора медицинских наук, профессора О.А. Кисляк «ЗАВЕРЯЮ»
Ученый секретарь ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
Кандидат медицинских наук, доцент



О.М.Демина