

## ОТЗЫВ

официального оппонента Виллевальде Светланы Вадимовны на диссертационную работу Кабуровой Анастасии Николаевны «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 диссертационного исследования

Диссертационная работа Кабуровой А.Н. посвящена изучению состава и роли кишечной микробиоты у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса. Этот фенотип сердечной недостаточности вызывает большой интерес среди клиницистов и ученых ввиду растущей распространенности, сложного патогенеза, высокой коморбидности и неблагоприятного прогноза. В последние годы возникла необходимость поиска новых подходов к лечению сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса в связи с отсутствием достаточной доказательной базы для лечения таких пациентов.

Одновременно с изучением эпидемиологических и клинических аспектов сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, а также попытками раскрыть ее патогенез, получила развитие технология секвенирования 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК). Это открыло перспективы для понимания состава, метаболизма и роли кишечной микробиоты в развитии хронических неинфекционных заболеваний, в том числе заболеваний сердечно-сосудистой системы, и сердечной недостаточности в частности. К настоящему времени имеются данные о том, что изменения состава кишечной микробиоты, а также ряд микробных маркеров (метаболиты, липополисахарид грамотрицательных бактерий) способны индуцировать или усугублять системное воспаление. Исходя из современной концепции патогенеза сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, системное вялотекущее воспаление играет одну из ключевых ролей, участвуя в процессе ремоделирования миокарда и его ригидности с последующим нарушением диастолической функции. В настоящее время тема состава и вклада кишечной микробиоты в механизмы развития и прогрессирования сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса остается малоизученной в мире и в России.

Таким образом, работа Кабуровой А.Н., целью которой является изучение связи кишечной микробиоты с фиброзом миокарда и состоянием хронического вялотекущего системного воспаления у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса, является актуальной с научной и практической точек зрения.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, имеют высокую степень обоснованности, что обусловлено достаточной для получения достоверных результатов выборкой, выбранным дизайном одномоментного исследования, использованными методами в строгом соответствии с поставленными задачами.

В исследование включено 76 мужчин и женщин (42 человека в возрасте 46–79 лет в группу сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса и 34 человека в возрасте 56-76 лет в контрольную группу), отобранных на основании четко сформулированных критериев включения и невключения. Важное значение для достоверности результатов имеет ограничение включения в исследование пациентов с большинством состояний, ассоциированных с системным воспалением, а также исключение приема метформина, антибиотиков и слабительных средств, что позволило минимизировать влияние лекарственных препаратов на состав кишечной микробиоты.

На этапе скрининга применены современные клинические, лабораторные и инструментальные методы в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями, включая определение N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида и эхокардиографию с тканевой доплерографией. При углубленном обследовании оценены уровни молекулярных и экспрессии генетических маркеров фиброза миокарда, а также уровни маркеров системного вялотекущего воспаления, эндотоксемии, маркеров метаболизма бактерий кишечника с использованием методов иммуноферментного анализа, полимеразной цепной реакции, жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, реакции лизата амебоцитов с эндотоксином. В группе пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса оценен объем внеклеточного матрикса с применением магнитно-резонансной томографии с контрастированием гадолинием и T1-картированием миокарда левого желудочка, самого современного метода неинвазивной оценки выраженности диффузного интерстициального миокардиального фиброза.

Выполнено секвенирование 16S рРНК кишечной микробиоты, при этом процедура отбора кала пациентами была унифицирована в соответствии с разработанным протоколом. Изучение характера питания с использованием опросника «Индекс здорового питания» позволило учесть этот фактор при сравнении результатов изучения кишечной микробиоты в сравниваемых группах.

Особо следует отметить уровень статистической обработки данных, выполненной в среде анализа данных R 3.5.1. Автором применена поправка на ковариаты в модели логистической регрессии, что позволило принять во внимание влияние третьих факторов на состав кишечной микробиоты. При установлении ассоциаций между родами кишечной микробиоты и показателями системного воспаления, фиброза и дисфункции миокарда использован корреляционный и регрессионный анализ, что обеспечило более полное описание связей и учет ковариат.

Обсуждение результатов исследования аргументировано. Полученные в работе выводы и практические рекомендации полностью основаны на собственных результатах и соответствуют цели и задачам исследования.

#### **Научная новизна и достоверность исследования и полученных результатов**

Научная новизна диссертационной работы Кабуровой А.Н. не вызывает сомнений. Впервые в Российской Федерации изучен состав кишечной микробиоты у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса методом секвенирования 16S рРНК в ассоциации с широким спектром современных биохимических, генетических и инструментальных маркеров, характеризующих процессы фиброза миокарда и хронического вялотекущего системного воспаления. Установлен спектр родов бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты, и условно-патогенных бактерий, относительная представленность которых оказалась измененной при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса при сопоставлении с контрольной группой исследования.

Впервые в отечественной науке и практике было определено, что концентрация микробных маркеров, имеющих значение в патогенезе хронической сердечной недостаточности – триметиламин-N-оксида и липополисахарида грамотрицательных бактерий – выше при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, чем в контрольной группе с нормальной диастолической функцией.

Автором впервые продемонстрировано, что снижение представленности продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты родов при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса ассоциировано с уровнем маркеров фиброза миокарда. В частности, низкая представленность рода *Gemmiger* ассоциирована с высоким уровнем маркера фиброза миокарда С-терминального пропептида проколлагена I типа. Среди родов, низкая представленность которых была ассоциирована с экспрессией микроРНК, отражающих фиброз миокарда, определены *Lactobacillus*, *Oscillospira*, неклассифицированный род семейства *Lachnospiraceae*.

В дополнение к доказательствам связи между низкой представленностью продуцентов короткоцепочечных жирных кислот и фиброзом миокарда при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса обнаружена ассоциация низкого уровня родов *Faecalibacterium* и *Lachnoclostridium* с большим объемом внеклеточного матрикса, отражающую выраженность интерстициального фиброза при T1-картировании миокарда.

Впервые получены данные об ассоциации низкой представленности продуцирующего короткоцепочечные жирные кислоты рода *Gemmiger* с высокими значениями N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса. Также с данным маркером были ассоциированы роды *Lactobacillus* и *Candidatus Soleaferrea*.

#### **Научно-практическая значимость исследования**

Работу Кабуровой А.Н. отличает высокая научная и практическая значимость. Полученные данные дополняют сформировавшиеся представления о составе кишечной микробиоты у пациентов с сердечной недостаточностью с фракцией выброса левого желудочка менее 50%. Автором определены паттерны изменений относительной представленности родов кишечной микробиоты в ранее малоизученной в отечественной и мировой практике группе пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса, что позволит расширить терапевтические подходы, основанные на коррекции патогенетических механизмов развития и прогрессирования этого фенотипа сердечной недостаточности.

На основании данных, полученных в исследовании, определен спектр бактерий, которые целесообразно оценивать для идентификации ассоциированного с кишечной микробиотой системного воспаления и фиброза миокарда. Демонстрировано, что оценка концентрации триметиламин-N-оксида и липополисахарида является перспективной для детального изучения

патогенеза сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса и целенаправленной коррекции.

Результаты работы предоставляют обоснование для проведения крупных исследований по углубленному изучению роли кишечной микробиоты в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, для реализации подходов трансляционной медицины в этом направлении кардиологии. Результаты исследования могут применяться для разработки диагностических технологий, позволяющих идентифицировать представленность бактерий кишечной микробиоты, ассоциированных с механизмами развития сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса.

### **Полнота публикации результатов работы**

Результаты диссертационного исследования полноценно представлены в 9 печатных работах, из них 6 статей в научных журналах, включенных в Перечень Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и/или международные базы цитирования Scopus и Web of Science. Кабурова А.Н. неоднократно представляла результаты диссертационного исследования в виде устных докладов на отечественных и крупных международных конгрессах, в том числе конгрессах Европейского общества кардиологов.

### **Структура и содержание диссертации**

Структура диссертации традиционна. Работа изложена на 182 страницах компьютерного текста, включает введение, 4 главы (обзор литературы, материал и методы, результаты исследования, обсуждение), заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы, который представлен 463 источниками (18 отечественные и 445 иностранные). Указаны исследования, описывающие самые современные данные по теме диссертации. Работа проиллюстрирована 24 таблицами и 9 рисунками. Диссертация написана логично, хорошим литературным языком.

Во введении обоснована и лаконично представлена актуальность работы, описаны цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость. Сформулированы шесть положений, выносимых на защиту.

В обзоре литературы описано настоящее состояние проблемы, логически и структурированно представлены современные данные в области эпидемиологии и патогенеза сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса. Автор дает всеобъемлющий взгляд на имеющиеся

результаты изучения роли кишечной микробиоты и ее метаболитов, а также структурных компонентов бактерий в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. В финальной части раздела сформулировано заключение, которое служит обоснованием проведения диссертационного исследования.

Глава «Материал и методы исследования» посвящена описанию схемы исследования, этапов формирования выборки, применявшихся клинических, инструментальных и лабораторных методов обследования, статистического анализа данных. Особое внимание уделено описанию ключевой методике работы – анализу микробиоты кишечника с выделением дезоксирибонуклеиновой кислоты, подготовкой библиотек и секвенированием 16S рРНК, биоинформатической обработкой данных секвенирования.

В третьей главе изложены результаты собственного исследования. Более полное описание клинических характеристик пациентов (включая признаки сердечной недостаточности, ее длительность, анамнез госпитализаций с декомпенсацией, сопутствующих заболеваний) расширило бы представление об изученной популяции пациентов. Автором дана подробная характеристика кишечной микробиоты на основании применения секвенирования 16S рРНК в группах сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса и пациентов без нарушений диастолической функции с описанием относительной представленности бактерий на различных таксономических уровнях.

Описаны установленные в ходе корреляционного и регрессионного анализа ассоциации между родами кишечной микробиоты, которые имели статистически значимо отличную относительную представленность при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса в сравнении с контрольной группой, и маркерами системного воспаления, фиброза миокарда, объемом внеклеточного матрикса. Решение всех задач исследования дополнено применением поправки на ковариаты в модели логистической регрессии.

В главе «Обсуждение» подведены итоги и систематизированы полученные данные, сопоставлены результаты собственных наблюдений с работами, которые изучали связь кишечной микробиоты с состояниями, характеризующимися хроническим воспалением, и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Автор систематизировал большой объем фундаментальных и клинических данных о свойствах бактерий кишечника для формулировки гипотез об их роли при сердечной недостаточности с сохраненной фракцией

выброса и перспективах дальнейшего применения данных на основании полученных результатов.

Автореферат диссертации представлен на 24 страницах компьютерного текста, включает иллюстрации и таблицы, которые облегчают понимание и интерпретацию результатов. Автореферат отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Выводы и практические рекомендации сформулированы четко и полностью соответствуют поставленным задачам исследования.

### **Замечания**

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет.

При анализе представленной работы возникли вопросы, которые отражают интерес к выполненному исследованию и не снижают общую положительную оценку:

1. Как можно объяснить выявленные по данным корреляционного анализа прямые связи родов *Faecalibacterium*, *Eubacterium* и *Peptococcus* с уровнем липополисахарида грамотрицательных бактерий?
2. С чем могут быть связаны более высокие уровни триметиламин-N-оксида у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса по сравнению с контрольной группой, учитывая отсутствие различий в относительной представленности значимых продуцентов данного метаболита между группами?
3. Какова роль изменения состава и системных эффектов кишечной микробиоты в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, в том числе в сопоставлении с фенотипами сердечной недостаточности с фракцией выброса менее 50%?
4. На основании полученных в работе данных о кишечной микробиоте как потенциальной терапевтической мишени у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса какие вмешательства Вам представляются перспективными?

### **Заключение**

Диссертационная работа Кабуровой Анастасии Николаевны «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», которая выполнена 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 законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, которая содержит решение актуальной научной задачи кардиологии – установление роли кишечной микробиоты как нового аспекта патогенеза сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, что является важным для развития медицинской науки в области кардиологии.

По своей актуальности, научной новизне, практической значимости полученных результатов, методическому уровню диссертация Кабуровой А.Н. соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (в действующей редакции постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 №335, 28.08.2017 №1024, 01.10.2018 №1168 и др.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20. «Кардиология».

**Официальный оппонент:**

Начальник службы анализа и перспективного планирования  
Управления по реализации федеральных проектов, заведующая кафедрой кардиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,  
доктор медицинских наук, профессор

Светлана Вадимовна  
Виллевалъде

Подпись профессора С.В. Виллевалъде заверяю:

Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»  
Минздрава России,  
доктор медицинских наук, профессор



Александр Олегович  
Недошивин

\_\_\_\_\_ 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России), 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2. Телефон: +7(812)702-37-30, сайт <http://www.almazovcentre.ru>, e-mail [fmrc@almazovcentre.ru](mailto:fmrc@almazovcentre.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 (Петровверигский 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).

<p>Фамилия, Имя, Отчество (полностью), дата рождения, гражданство</p>	<p>Ученая степень, наименование отрасли науки, научная специальность, по которой защищена диссертация, ученое звание (при наличии)</p>	<p>Полное название организации, являющейся основным местом работы официального оппонента (на момент предоставления отзыва)</p>	<p>Занимаемая должность в организации (на момент предоставления отзыва)</p>	<p>Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях (не менее 5-ти работ за последние 5 лет, близкие по теме оппонируемой диссертации)</p>
<p>Виглевальде Светлана Вадимовна, 3 июня 1967 г., Российская Федерация</p>	<p>доктор медицинских наук, 14.00.05 – внутренние болезни, 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология медицинских науки, профессор</p>	<p>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2</p>	<p>Начальник службы анализа и перспективного планирования Управления по реализации федеральных проектов, заведующая кафедрой кардиологии Института медицинского образования</p>	<p>1. Федорова Д.Н., Соловьева А.Е., Фудим М., Галенко В.Л., Козленок А.В., Березина А.В., Виглевальде С.В. Частота гемодинамического ответа и симптомов в ортостазе при хронической сердечной недостаточности с низкой фракцией выброса, ассоциации с клиническим артериальным давлением. Российский кардиологический журнал. 2022; 27(2S): 38-45. 2. Виглевальде С.В., Соловьева А.Е. Декомпенсация сердечной недостаточности с низкой фракцией выброса: преодоление барьеров для улучшения прогноза в «узкий» период после выписки. Кардиология. 2021; 61 (12): 82-93.</p>

				<p>3. Соловьева А.Е., Ендубаева Г.В., Авдоница Н.Г., Коган Е.И., Горбачева Т.В., Лубковский А.В., Язенок А.В., Яковлев А.Н., Зартау Н.Э., Вилгевальде С.В., Шляхто Е.В. Хроническая сердечная недостаточность согласно кодам МКБ-10 в электронных медицинских записях Санкт-Петербурга: распространенность, нагрузка на систему здравоохранения, исходы. Российский кардиологический журнал. 2021;26(S3):15</p> <p>4. Кобагава Ж.Д., Лужина О.И., Мерай И., Вилгевальде С.В. Параметры левожелудочково-артериального сопряжения и их влияние на прогноз у пациентов с декомпенсацией сердечной недостаточности. Российский кардиологический журнал. 2020; 25 (1): 39-45.</p> <p>5. Кобагава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Соловьева А.Е., Кабельо Ф., Мерай И.А., Шаварова Е.К., Вилгевальде С.В. Лечочный застой по данным ультразвукового исследования у пациентов с декомпенсацией сердечной недостаточности. Кардиология. 2019; 59(8): 5-14.</p>
--	--	--	--	---

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

**Официальный оппонент**

Д.М.Н., профессор

С. В. Вилгевальде



« 16 » декабря 2022г.

Подпись Д.М.Н., профессора Вилгевальде С.В. заверяю



Подпись: Соловьева А.Е.  
Заведующий  
Соловьева А.Е.