

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. проректора по научной работе
федерального государственного
бюджетного образовательного

учреждения высшего образования

«Санкт-Петербургский
государственный университет»




_____ А.С. Ярмош

_____ 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» на диссертацию Ачасовой Ксении Михайловны «Роль гликопротеина муцина² и его структурного компонента фукозы в регуляции барьерной функции кишечника», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки)

Актуальность темы диссертации

Диссертация Ачасовой К.М. посвящена исследованию роли гликопротеина муцина² и его компонента моносахарида фукозы в регуляции барьерной функции кишечника на животной модели (мышь с нокаутом гена Muc2) воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Муцин² – секреторный муцин, который составляет основу защитного мукозного слоя, покрывающего эпителиальные клетки, и является важным компонентом мукозального барьера в кишечнике. Этот слой играет важную роль в регуляции взаимоотношений хозяин-микроорганизм и поддержании нормального функционирования кишечника, а его нарушение ассоциировано с рядом заболеваний, в том числе, с ВЗК.

ВЗК являются широко распространенной группой хронических воспалительных заболеваний ЖКТ, этиология которых до конца не изучена. В патогенез ВЗК вовлечены генетические и средовые факторы, такие как изменения кишечной микробиоты и повышение проницаемости слизистых оболочек кишечника. Эти факторы играют роль в нарушении регуляции иммунных реакций, что приводит к воспалительным процессам и повреждению кишечника. Медикаментозные терапевтические подходы к лечению ВЗК направлены на подавление воспалительных процессов за счет воздействия как на иммунную систему, так и на микробиоту кишечника антимикробных препаратов и пробиотиков. Однако, терапия ВЗК не всегда оказывается эффективной, что с одной стороны побуждает к исследованию механизмов, вовлеченных в патогенез заболеваний, а с другой – обуславливает актуальность исследований по поиску новых способов модуляции микробиоценоза кишечника. В частности, популярность приобрело исследование пребиотиков – олиго- и полисахаридов, которые не перевариваются в ЖКТ

хозяина, но способны оказывать благоприятное действие на кишечную микробиоту. К таким веществам относятся, например, сахараиды, содержащие моносахарид фукозу. В кишечнике фукоза, входящая в состав гликопротеинов, в том числе муцина2, играет важную роль в поддержании нормального функционирования кишечника, опосредуя взаимодействия между микроорганизмами и клетками хозяина (является питательным субстратом для ряда бактерий, влияет на вирулентность, адгезию патогенов). В ряде исследований показано, что фукоза (как эндогенная, так и экзогенная) может влиять на состав микробиоценоза кишечника.

Таким образом, диссертация Ачасовой К.М. является актуальным исследованием и вносит вклад в развитие представлений о регуляции нормального функционирования кишечника.

Научная новизна исследования

Результаты диссертации впервые демонстрируют, что муцин 2 играет роль в защите мышей от протозойной инфекции *Tritrichomonas* sp. – генетически обусловленный дефицит муцина2 снижает устойчивость к колонизации этими микроорганизмами.

Впервые показана защитная роль бактериальной микробиоты кишечника при протозойной инфекции *Tritrichomonas* sp. при дефиците муцина2. На фоне протозойной инфекции обеднение бактериальной микробиоты мышей с нокаутом гена *Muc2* антимикробными препаратами приводило к истощению и гибели животных.

Впервые на модели хронического воспаления в кишечнике показано, что при обеднении микробиоты кишечника антибактериальными препаратами разнообразие бактериальной микробиоты зависит от присутствия *Tritrichomonas* sp. У мышей с протозойной инфекцией разнообразие микробиоты увеличивается, а у мышей, свободных от инфекций, наоборот, снижается.

Впервые показано, что применение моносахарида L-фукозы способствует угнетению протозойной инфекции *Tritrichomonas* sp. в кишечнике мышей на фоне обеднения бактериального состава микробиоты антимикробными препаратами.

Научно-практическая значимость полученных результатов

Научно-практическая значимость результатов диссертации не вызывает сомнений. Во-первых, при выполнении исследования была подробно охарактеризована экспериментальная животная модель ВЗК, выявлены некоторые особенности иммунного статуса *Muc2*^{-/-}, что вносит вклад в понимание механизмов развития хронического воспаления в кишечнике при генетически обусловленном дефиците муцина2.

Во-вторых, результаты исследования демонстрируют эффекты на иммунные и другие физиологические показатели, а также на жизнеспособность, которые могут иметь место при обеднении микробиоты кишечника у индивидов с нарушениями барьерной функции, в том числе, на фоне протозойной инфекции.

В-третьих, в исследовании показан угнетающий эффект моносахарида L-фукозы на развитие простейших *Tritrichomonas* sp. у мышей *Muc2*^{-/-}. Полученные данные могут служить основой для исследования механизмов регуляции L-фукозой колонизации

кишечника микроорганизмами и для разработки новых способов регуляции патологических состояний, связанных с развитием простейших *Tritrichomonas* spp. и *Trichomonas* spp., некоторые представители которых являются возбудителями заболеваний мочеполовой системы и ЖКТ человека и сельскохозяйственных и домашних животных.

Личный вклад автора

Все эксперименты на лабораторных животных, описанные в диссертации, проведены лично автором. Работа с биологическим материалом, полученным в результате выполнения экспериментов, лабораторные анализы выполнены лично автором. Исключение составляют метагеномный анализ микробиоты методом секвенирования ампликонов 16S рРНК (был выполнен коммерческой организацией – компанией Novogene, Китай), а также секвенирование подготовленных автором образцов ДНК (выполнено в ЦКП «Молекулярная и клеточная биология» ИМКБ СО РАН). Статистическая обработка и описание полученных данных были выполнены лично автором (за исключением биоинформатического анализа данных, полученных в результате секвенирования ампликонов, который был выполнен в компании Novogene, Китай).

Общая характеристика диссертации

Диссертация изложена на 156 страницах печатного текста, содержит 29 рисунков, 3 таблицы и 13 страниц приложений к диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, списка литературы (255 источников) и приложений.

Глава «Обзор литературы» подробно описывает механизмы взаимодействия микробиоты кишечника с организмом хозяина и важную роль кишечного барьера в этом взаимодействии, а также нарушения механизмов такого взаимодействия при ВЗК. Приведенные данные достаточно полно характеризуют современные представления об исследуемой проблеме. В главе «Материалы и методы» приведено подробное описание дизайна экспериментов и условий содержания животных, детально описаны все методы, использовавшиеся для анализа полученного биологического материала. В исследовании применяли широкий набор современных методов, выбор которых согласуется с поставленными задачами. Результаты исследования, полученные в 7 экспериментах на животных, последовательно изложены в одноименной главе. В главе «Обсуждение результатов» результаты исследования подробно проанализированы, сопоставлены с данными литературы. В заключении обобщаются основные результаты исследования, выводы вытекают из полученных результатов и их обсуждения, соответствуют задачам исследования.

Обоснованность достоверности результатов диссертации

Обоснованность достоверности результатов диссертации складывается из использованных подходов к планированию научного исследования, использования адекватной экспериментальной модели и набора разнообразных современных, надежных методов. В качестве экспериментальной модели хронического воспаления и нарушения

барьерной функции в кишечнике были использованы мыши с нокаутом гена *Muc2* (*Muc2*^{-/-}), данная модель зарекомендовала себя в разнообразных исследованиях механизмов поддержания нормального функционирования кишечника и развития патологических состояний, связанных с его нарушением.

Важным аспектом диссертации является микробиота кишечника, в связи с этим, большое внимание в дизайне экспериментов уделяется микробиологическому статусу животных. Эксперименты проводились на животных, содержащихся в индивидуально-вентилируемых клетках, что предотвращало контаминацию микроорганизмами животных в экспериментальных группах. Так же в качестве контрольных групп сравнения были использованы однопометники мышей *Muc2*^{-/-}, не несущие мутантный аллель (*Muc2*^{+/+}), что позволило свести к минимуму различия в составе кишечной микробиоты. Такие подходы к дизайну экспериментов широко используются в международной практике при проведении научных исследований.

Основные результаты диссертации были представлены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях, по теме диссертации опубликовано 11 статей в международных изданиях и изданиях, рекомендованных ВАК.

Замечания по диссертации

Возникшие при ознакомлении с диссертацией замечания и вопросы не носят принципиального характера, но их необходимо разделить на те, которые относятся к форме представления материала и те, которые касаются содержательной части работы. Диссертация, в целом, хорошо оформлена. Стил изложения достаточно прост и понятен, в тексте практически отсутствуют грамматические ошибки и опечатки. Однако в работе встречаются стилистические ошибки, связанные с неверным построением предложения из-за неточности употребления микробиологических и медицинских терминов. Например, на стр. 64 и далее «...мышей, свободных от инфекций»); на стр.69 и далее «...мышей, рожденных с инфекциями»); на стр.76 и далее «...мышы с инфекциями». В работе по всему тексту вместо современного термина «микробиота» использован устаревший термин «микрофлора», вместо «микроорганизм» - «микроб», на стр.68 «...выравниванию микрофлоры». Особый вопрос вызывает утверждение на стр.106: «Сепсис бактериальными токсинами»? Неточно использованы физиологические термины, такие как «мукус» на стр.15 и далее, «гомеостаз», например, на стр.17 и далее «.....в поддержании гомеостаза в кишечнике». Некорректно звучит на стр.55, п.3.1.2. «В ткани толстой кишки *Muc2*^{-/-} мышей увеличена экспрессия факторов воспаления», а не экспрессия генов.

Вместе с тем, при чтении диссертационного исследования становится очевидной необходимость более глубокого рассмотрения закономерностей, связанных с развитием в микробиоте кишечника смешанных микробных сообществ, состоящих из простейших и бактерий, так как не вызывает сомнения насколько велика роль взаимного влияния различных микроорганизмов друг на друга при развитии инфекционного процесса. Остается сожалеть о том, что это наиболее перспективное и интересное направление не получило должного развития и рассмотрения в представленной работе, что могло бы вызвать особый интерес у широкого круга специалистов, как микробиологов, так и

физиологов. Все сделанные замечания не снижают общей высокой оценки рецензируемой работы.

Заключение

Диссертационная работа Ачасовой Ксении Михайловны «Роль гликопротеина муцина2 и его структурного компонента фукозы в регуляции барьерной функции кишечника», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является самостоятельной и законченной научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная научная задача – исследование роли гликопротеина муцина2 в барьерной, защитной функции кишечника, а также демонстрируется защитная роль кишечной микробиоты.

Диссертация Ачасовой К.М. по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует пунктам 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168) предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв подготовлен доктором биологических наук, профессором Рыбальченко Оксаной Владимировной. Обсуждение и утверждение отзыва состоялось 25 апреля (протокол № 4 от 25.04.22).

И.о. зав. кафедрой физиологии
медицинского факультета СПбГУ

Е.Н. Парийская

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ
Е.Н. Парийская
ЗАВЕРЯЮ



Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ
Н.К. КОРЕЛЬСКАЯ

27.04.22.