ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Орловой Елизаветы Андреевны на тему: «Роль сателлитной микробиоты туберкулёзного очага в патогенезе гранулёматозного воспаления», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Туберкулёз остаётся одной из наиболее значимых инфекционных патологий во всём мире, продолжая представлять серьёзную угрозу общественному здоровью. Несмотря на развитие антибактериальной терапии и внедрение программ по борьбе с заболеванием, микобактерии туберкулеза (МБТ) сохраняют способность к длительной персистенции в организме человека, а резистентные формы патогена усложняют лечение. Центральным элементом иммунного ответа при туберкулёзной инфекции является формирование гранулёмы — сложной клеточной структуры, состоящей из макрофагов, эпителиоидных клеток, гигантских клеток Лангханса и лимфоцитов. Внутри гранулёмы создаются специфические микроусловия, способствующие как ограничению инфекции, так и выживанию МБТ.

Долгое время считалось, что туберкулёзный очаг представлен исключительно микобактериями и клетками иммунной системы. Однако современные молекулярно-биологические методы позволили пересмотреть этот взгляд. Метагеномные исследования показали, что лёгкие человека вовсе не являются стерильными, а их микробиота включает широкий спектр микроорганизмов, способных взаимодействовать с хозяином и влиять на течение различных патологий. В контексте туберкулёза особый интерес представляет сателлитная микробиота туберкулёзного очага — совокупность неспецифических микроорганизмов, населяющих гранулёмы наряду с *M. tuberculosis*. Эти микроорганизмы могут изменять иммунный ответ, влиять на процессы воспаления, разжижение некротических масс и даже модулировать рост микобактерий. В то же время, степень их влияния на патогенез туберкулёза остаётся недостаточно изученной, что делает исследование данного вопроса особенно важным.

В последние годы появилось несколько работ, демонстрирующих значимые различия в составе микробиоты лёгких у пациентов с туберкулёзом и здоровых людей. Было установлено, что в лёгочных очагах могут присутствовать *Corynebacterium, Staphylococcus, Streptococcus* и другие бактерии, но их роль в формировании гранулёмы и развитии болезни остаётся предметом дискуссий. Некоторые исследования указывают на возможное участие сателлитной микробиоты в разрушении казеозного некроза, что может способствовать дальнейшему распространению инфекции. Однако пока эти процессы не получили детального экспериментального подтверждения, что оставляет открытыми многие вопросы о взаимодействии туберкулёзных гранулём и сателлитной микробиоты.

На фоне вышеописанных проблем работа Орловой Елизаветы Андреевны, посвященная исследованию влияния сателлитной микробиоты туберкулёзного очага на иммунные реакции и патогенез гранулёматозного воспаления у больных туберкулёзом лёгких, представляется весьма актуальной.

Исследование представляет собой первое комплексное изучение сателлитной микробиоты туберкулёзных очагов, раскрывающее её возможное влияние на патогенез заболевания. Автором проведён убедительный анализ бактериального состава казеозного некроза, который показал, что доля *M. tuberculosis* в микробиоме поражённых участков лёгких может варьировать от 5% до 99,9%. Это доказывает, что в значительном числе случаев очаговый туберкулёз связан не только с микобактериями, но и с сопутствующими микроорганизмами.

Елизаветой Андреевной выявлены ранее неизвестные олигобактериальные туберкулёзные очаги, в которых преобладают *Staphylococcus spp.*, а их присутствие коррелирует с нейтрофильной инфильтрацией гранулёмы. Важным результатом стало

установление связи сателлитной микробиоты с системными воспалительными маркерами, такими как лейкоцитоз и тромбоцитоз у пациентов с туберкулёзом.

Впервые из казеозного некроза выделены и охарактеризованы факультативно-анаэробные микроорганизмы, принадлежащие к родам *Corynebacterium* и *Staphylococcus*, которые обладают уникальными патогенетическими свойствами. Исследование впервые продемонстрировало иммуномодулирующую активность сателлитной микробиоты. У пациентов с туберкулёзом выявлены гуморальный и клеточный иммунный ответ к *Corynebacterium kefirresidentii* и *Staphylococcus epidermidis*, включая активацию Th1- (IFN-γ) и Th2- (IL-4) иммунных путей, а также регуляторного ответа (IL-10).

Проведённые *in vitro* эксперименты показали, что клеточные лизаты *C. kefirresidentii* и *S. epidermidis* стимулируют образование гранулёмоподобных структур, что подтверждает их влияние на воспалительный процесс. Также впервые установлено, что *C. kefirresidentii* способствует формированию биоплёнки Mycobacterium bovis var. BCG, что открывает новые перспективы изучения межмикробных взаимодействий в туберкулёзных очагах.

Полученные результаты могут стать основой для дальнейших исследований по разработке новых иммуномодулирующих препаратов и вакцин, ориентированных на коррекцию иммунного ответа при туберкулёзе лёгких.

Достоверность результатов исследования обеспечена комплексным молекулярно-биологическим, микробиологическим, биоинформационным и иммунологическим анализом, который проведён на достаточном объёме клинического и экспериментального материала. Обработка данных осуществлялась с применением современных методов биостатистики, что обеспечивает статистическую надёжность полученных результатов.

Репрезентативность исследования подтверждается широким охватом клинических образцов, включающих биопсийный материал от 72 пациентов с туберкулёзом лёгких, что позволяет учитывать индивидуальные различия в составе микробиоты и особенностях иммунного ответа.

Результаты исследования прошли апробацию на ведущих международных и всероссийских научных конференциях, а основные выводы опубликованы в рецензируемых журналах, в том числе 8 статей в ведущих журналах, индексируемых в базах RSCI, Web of Science и Scopus, что дополнительно подтверждает научную значимость и достоверность полученных данных.

Замечания и вопросы к автореферату

Диссертационная работа Орловой Елизаветы Андреевны производит очень хорошее впечатление, затрагивая актуальную и малоизученную тему. Исследование выглядит новаторским, а его результаты представляют серьёзную научную ценность. Возможно, в автореферате из-за ограниченного объёма не удалось полноценно раскрыть все аспекты методологии и интерпретации данных, поэтому в ходе прочтения возникло несколько вопросов, которые могут быть интересны для обсуждения.

1) Соотнесение результатов с другими исследованиями

В разделе *«Результаты и обсуждение»* не приводится сравнение полученных данных с результатами других авторов. В то же время в разделе *«Актуальность темы»* отмечено, что исследования по лёгочной микробиоте при туберкулёзе уже проводились. Было бы любопытно узнать, как соотносятся выявленные бактериальные сообщества с данными других работ, особенно касающимися разнообразия сателлитной микробиоты в туберкулёзных очагах. Возможно, эти вопросы подробно раскрыты в полном тексте диссертации, но в автореферате такой анализ не представлен.

2) Метод выделения ДНК и возможное влияние на результаты

В автореферате не указаны детали метода выделения ДНК перед последующим анализом, что, скорее всего, связано с экономией места. Из лично опыта известно, что использование стандартных методов может давать разнящиеся результаты в концентрации ДНК, даже при использовании одинакового количества бактерий для выделения. В связи с этим хотелось бы уточнить, проводился ли анализ эффективности выделения ДНК из

бактерий, полученных из биоптатов и, например, выращенных в культурах? Кроме того, возможно, в полном тексте работы рассматривается ещё один интересный вопрос: проводился ли анализ связи между составом микробиоты очага и генетической линией микобактерий. Это могло бы дать дополнительные ключи к пониманию факторов, определяющих состав бактериального сообщества в очаге туберкулёза.

3) Связь сателлитной микробиоты туберкулёзного очага с кожной микробиотой пациента.

Некоторые из обнаруженных микроорганизмов (например, *Staphylococcus spp.)* известны как представители нормальной кожной микробиоты. Было бы интересно узнать, рассматривался ли вопрос сравнения выявленных бактерий с кожной микробиотой пациентов? Возможно, определённые бактериальные виды могут попадать в туберкулёзные очаги экзогенным путём, и это могло бы стать дополнительным аспектом для обсуждения.

Заданные вопросы не имеют принципиального характера и ни в коем случае не умаляют значимость работы, а лишь служат развитием научной дискуссии в данной области. Работа оставляет очень позитивное впечатление, а полученные результаты открывают широкие перспективы для дальнейших исследований. Можно только пожелать автору дальнейших успехов и новых научных достижений!

Диссертационная работа Орловой Е.А. на тему «Роль сателлитной микробиоты туберкулёзного очага в патогенезе гранулёматозного воспаления», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3 Патологическая физиология, является завершённой научно-исследовательской работой, по актуальности, научной новизне и практической значимости полностью соответствующей требованиям Постановления Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (ред. от 25.01.2024 г.) «О порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных, необходимых для работы диссертационного совета 24.1.187.01 при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск (в соответствии с приказом Минобрнауки России № 1 от 9 января 2020 г.).

Доктор биологических наук, руководитель отдела биомедицины и геномики, заведующий лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России _____ Шитиков Егор Александрович

«17» февраля 2025 г.

Подпись Шитикова Е.А. заверяю, ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, кандидат биологических наук

Кострюкова Е.С. «17» февраля 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России), 119435, Москва, Малая Пироговская, д. 1а, +7 (499) 246-4409, электронная почта: niifhm@fmbamail.ru, сайт: https://rcpcm.ru