

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.101.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ПРОБЛЕМ ПЕРЕДАЧИ
ИНФОРМАЦИИ ИМ. А.А. ХАРКЕВИЧА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета
от 27 июня 2023, протокол № __7__

О присуждении Клименко Наталье Сергеевне,
Гражданке Российской Федерации,
Ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Межиндивидуальная вариабельность изменений состава кишечной микробиоты при диетических интервенциях» по специальности 1.5.8. — Математическая биология, биоинформатика, принята к защите 18 апреля 2023 года, протокол №3, диссертационным советом 24.1.101.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (127051, г. Москва, Большой Каретный переулок, д.19 стр. 1, приказ о создании №978/нк от 16 декабря 2013 года, номер изменен приказом № 561/нк от 03 июня 2021 года).

Соискатель **Клименко Наталья Сергеевна**, гражданка Российской Федерации, 1989 года рождения, в 2014 году окончила факультет биомедицинской техники Московского Государственного Технического университета им. Н. Э. Баумана по специальности «инженерное дело в

медико-биологической практике». Соискатель работала в должности инженера в ЗАО «НПО Медицинского приборостроения» (с 01.2013 по 09.2015), в должности инженера-исследователя в ООО «Кномикс» (с 09.2015 по настоящее время), в должности старшего лаборанта-исследователя в группе биоинформатики в ФГБУН Институт биологии гена РАН (с 09.2018 по настоящее время) и в должности ведущего программиста в центре высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН Институт биологии гена РАН (с 11.2019 по настоящее время).

Диссертация выполнена в группе биоинформатики в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт биологии гена» Российской академии наук.

Научный руководитель - Тяхт Александр Викторович, кандидат биологических наук, научный сотрудник группы биоинформатики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена» Российской академии наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой компетентностью в области анализа микробных сообществ, соответствием научных интересов тематике диссертации, а также тем, что за последние годы ими было опубликовано большое количество научных работ, посвященных изучению микробиома.

Официальные оппоненты:

Олескин Александр Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры общей экологии биологического факультета Московского государственного университета им. Ломоносова, г. Москва,
Андронов Евгений Евгеньевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт

сельскохозяйственной микробиологии», г. Санкт-Петербург,
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук дала **положительное заключение**, подписанное кандидатом биологических наук Георгием Павловичем Арапиди, старшим научным сотрудником лаборатории молекулярной онкологии ИБХ РАН, и утвержденное 8 июня. В заключении содержится **ряд вопросов**:

1. В выносимых на защиту положениях делаются выводы с пометкой: «существенно схожи между интервенциями различного типа». При этом в работе исследование ограничено всего двумя различными интервенциями. На каком основании были сделаны подобные обобщения?
2. Удалось ли автору работы соотнести результаты, полученные в ходе данного исследования для краткосрочных диетических интервенций, с опубликованными данными по наблюдениям за изменениями микробиоты кишечника в результате более долгосрочных диетических интервенций?
3. Как повлияли на состояние доноров, вошедших в исследования, предложенные им изменения в пищевых предпочтениях? Можно ли эти изменения отнести к последствиям увеличения разнообразия микробного сообщества?
4. Что можно сказать о «норме» для микробиоты здоровых доноров по результатам исследования: соответствует ли предложенная выборка доноров какой-либо популяции?
5. Насколько одинаковы были пищевые интервенции у доноров внутри одной выборки? Каким образом отслеживали влияние иных диетических факторов на результаты исследования?

6. Можно ли по составу микробиоты кишечника определить какой диеты придерживается индивидуальный донор?
7. Исследовали ли влияние наследственных факторов на характер изменений микробиоты, вносимых диетическими интервенциями? Проводили ли анализ внутри одной семьи (родственников)? Что известно из литературных данных по исследованию пар близнецов (TwinsUK)?

Кроме того, отмечены следующие **недочеты**:

1. Для достижения поставленной в исследовании цели были предложены 8 задач, которые необходимо решить. Кажется, что задачи сформулированы излишне детально: можно было бы ограничиться 3-4 более общими задачами, объединив по 2-3 текущие задачи.
2. Выносимые на защиту положения (или выводы) имеют 7 пунктов. Мне более привычно видеть число выводов совпадающим с числом задач так, чтобы каждая задача имела отражение в соответствующем выводе.
3. В автореферате отсутствует Рисунок №7, на который имеется ссылка в том же автореферате.
4. Главы 2-4 диссертации представляют собой описание этапов исследования и оформлены независимо: каждая глава содержит свой раздел «Методы», «Результаты» и «Обсуждение». Мне более привычно видеть общие для всей работы главы «Методы», «Результаты» и «Обсуждение».
5. Довольно необычно при чтении диссертации найти в ней описание ее же структуры и объема, как будто читаешь не саму диссертацию, а лишь автореферат.

Несмотря на замечания, в отзыве содержится высокая оценка научного уровня выполненной работы и отмечено, что «Эти замечания ни в коей

мере не снижают прекрасного впечатления от самой работы, которая вызывает большой интерес». В заключении отзыва указано, что «Диссертационная работа Клименко Натальи Сергеевны «Межиндивидуальная вариабельность изменений состава кишечной микробиоты при диетических интервенциях» является научно-квалификационной работой высокого уровня. Вся работа является цельным и хорошо спланированным исследованием. В рамках сформулированной цели успешно решены все поставленные задачи, достоверность результатов не вызывает никаких сомнений, а выводы отражают суть полученных результатов. По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости представленная работа полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор, Клименко Наталья Сергеевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика».

Соискатель имеет 25 статей в международных рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК, из них 3 статьи по теме диссертации, общим объемом 41 страница. Кроме того, соискателем опубликованы 2 тезисов по теме диссертации в материалах международных конференций.

Статьи по теме диссертации:

1. **Klimenko, N. S., Tyakht, A. V., Popenko, A. S., Vasiliev, A. S., Altukhov, I. A., Ischenko, D. S., ... & Musienko, S. V. (2018).** Microbiome responses to an uncontrolled short-term diet intervention in the frame of the citizen science project. *Nutrients*, 10(5), 576.

2. Volokh, O.*, **Klimenko, N.***, Berezhnaya, Y., Tyakht, A., Nesterova, P., Popenko, A., & Alexeev, D. (2019). Human gut microbiome response induced by fermented dairy product intake in healthy volunteers. *Nutrients*, 11(3), 547.

3. **Klimenko, N.**, Odintsova, V., Revel-Muroz, Tyakht, A. (2022). The hallmarks of dietary intervention-resilient gut microbiome. *npj Biofilms and Microbiomes*, 8, 77.

Во всех публикациях диссертант является первым автором (в публикации 2 - совместно с Волох О. И.). Вклад диссертанта в опубликованную работу по теме диссертации состоит в планировании исследования (непосредственное планирование в публикации 3, участие в планировании в публикации 1 и 2), участии в формулировке задач (все публикации), теоретической разработке и практической реализации методов (все публикации), обработке и анализе данных (все публикации).

Полученные результаты могут быть использованы при чтении спецкурсов на биологических и биоинформатических факультетах ВУЗов, на курсах повышения квалификации биологов. Также, полученные автором результаты и отработанные подходы к анализу данных могут служить базисом для проведения последующих исследований по изучению влияния диетических вмешательств на микробиом кишечника человека, а также изучению стабильности микробных сообществ. Исследования такого рода проводятся в ведущих лабораториях мира.

На диссертацию поступило четыре отзыва на автореферат, все отзывы положительные. В отзывах указывается, что не вызывает сомнений актуальность темы рассматриваемой диссертации, а также научная и практическая ценность работы. Диссертация является законченной квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном уровне.

В отзыве оппонента Олескина Александра Владимировича, доктора

биологических наук, профессора кафедры общей экологии биологического факультета Московского государственного университета им. Ломоносова, в целом давшего высокую оценку и рекомендовавшего диссертацию к защите, **имеется ряд замечаний:**

1. В литературном обзоре следовало бы уделить больше внимания вкладу отечественных микробиологов в проблематику диссертации, включая, в особенности, работы проф. Б.А. Шендерова.
2. При в целом внимательном отношении диссертанта к современной таксономии микроорганизмов выскажу пожелание об устранении имеющихся спорных моментов; например, таксон Archaea имеет ранг домена, а не царства и логично было бы все остальные микроорганизмы рассмотреть под рубрикой домена Bacteria; рецензент осознает всю сложность и дискуссионность современной систематики, где спорным является даже число таксонов высшего уровня (доменов).
3. Затронутая в литературном обзоре тема роли микробных нейромедиаторов имеет ныне такой первостепенный интерес, что рецензент рекомендует (при публикации монографии) расширить данный раздел и цитировать первоисточники, а не только вторичную обзорную литературу.
4. При общей высокой научной и литературной грамотности диссертанта, отметим некоторую дискуссионность исходно англоязычных терминов («интервенция», кооператив» и др.), которые имеют свои ненаучные ассоциации в русском языке.
5. Диссертация и соответствующий ей по содержанию автореферат имеют минимальное число опечаток и стилистических погрешностей.

В отзыве отмечено, что «Все сделанные частные замечания и высказанные пожелания никак не умаляют высоких достоинств

рецензируемой диссертационной работы». В заключении отзыва указано, что «Диссертационная работа Клименко Натальи Сергеевны соответствует критериям (в том числе пп. 9-14), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика».

В отзыве оппонента Андропова Евгения Евгеньевича, доктора биологических наук, заведующего лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», дана высокая оценка работы и рекомендация диссертации к защите, при этом имеется ряд замечаний и вопросов:

1. Первое замечание носит общий характер и касается терминологического языка работы: 1) названия высших таксономических рангов лучше, именовать «фили»; 2) могу подсказать Автору, использующему термины «респондер» и «нереспондер», альтернативный термин - «отзывчивость»; 3) вместо терминов «корреляционная структура» или даже «корреляционной анализ структуры родового состава» лучше использовать: «сети», «хабы», «ноды»; 4) «последовательности после обрезания» и «обрезание по баллу качества» лучше заменить иностранным термином тримминг; 5) вместо «нормализации вектора признаков к сумме 1 путем деления на суммарное значение ридов на образец» лучше использовать простые термины «частота» или

«представленность» таксона; 6) среднее бета-разнообразие крайне сомнительно, лучше говорить о конкретных метриках; 7) «расстояние Эйтчитсона» правильно будет, «Эйтчисона» (Aitchison distance). Это не все, конечно, но Автору стоит внимательно поработать над языком изложения данных анализа микробиомов.

2. Использование тех или иных коэффициентов разнообразия должно быть обосновано, исходя из их свойств и конкретных задач и гипотез проекта. Поэтому в данном исследовании мне не хватает анализа коэффициентов, ориентированных на анализ ровности распределения в большей степени, чем Шеннон, например, индекса Симпсона, что позволило бы рассмотреть закономерности динамики с нескольких сторон.
3. То же самое касается бета-разнообразия, у которого тоже есть два тренда - взвешенность и невзвешенность, Автор использовал два индекса - взвешенный uniFrac и индекс Брея-Кёртиса. Частый вопрос в работах такого рода - какой именно индекс использовать. Один из вариантов - использование обобщенного индекса uniFrac, однако я бы посоветовал использовать обе версии этого индекса одновременно и именно при анализе данных, представленных Автором. Например, в данных, представленных на рис. 19, демонстрирующем изменения микробиоты, вызванные пробиотической интервенцией, использование невзвешенной версии uniFrac могло бы быть более информативным.
4. Как именно, из множества балансов фил Автор выбрала именно баланс Bacteroidetes:Firmicutes? На чем основывался этот выбор и проверяла ли Автор валидность других балансов в качестве предикторов?
5. Наконец, хотелось бы коснуться одного из последних выводов о том, что степень изменения микробиома можно предварительно

оценить до интервенции по его составу, путем оценки расстояния до множества других образцов крупной выборки, содержащей по одному образцу микробиоты на индивида. Могла бы быть сформулирована следующим образом: «типичные микробиомы менее отзывчивы на интервенции, чем маргинальные»? Значит ли это, что микробиота большинства пациентов (относящихся к самому большому кластеру нормы) будет малоотзывчива на интервенции различных типов?

В отзыве сказано, что «замечания являются лишь приглашением к дискуссии, они не уменьшают значимость полученных результатов и носят рекомендательный характер, а рецензируемая диссертационная работа Клименко Наталии Сергеевны представляется весьма перспективной для развития этого направления исследований». **В заключении указано,** что «Диссертационная работа Клименко Наталии Сергеевны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная задача в области исследования динамики кишечной микробиоты человека в ответ на диетические интервенции. Диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 в последней редакции, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. «математическая биология, биоинформатика».

В отзыве на автореферат Шестаковой Екатерины Алексеевны, доктора медицинских наук, главного научного сотрудника Центра лечения и профилактики метаболических заболеваний и ожирения ФБГУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, **указано,** что «Методологическая

работа Клименко Н. С. выполнена на высоком уровне: исследуемые группы включают большое число лиц, все значимые результаты имеют свое отражение в выводах диссертации. Следует отметить, что выводы сформулированы четко, отвечают задачам исследования. Основные результаты исследования опубликованы». **Также приведен вопрос:** «Предполагает ли автор, что изменение структуры кишечного сообщества на фоне приема обогащенного кисломолочного продукта (ОКП) было бы более значимым, если бы прием ОКП был не дополнением обычного рациона питания, а замещал один из приемов пищи? Данный вопрос носит уточняющий характер и не влияет на общее впечатление от работы».

В отзыве на автореферат Ковтуна Алексея Сергеевича, кандидата биологических наук, ведущего инженера-программиста АО «Микрон», указано, что «В целом, работа выполнена на высоком уровне с использованием современных методов статистического анализа с учетом характерных особенностей метагеномных данных. Результаты не вызывают сомнений, выводы работы обоснованы», **также отмечено, что** «единственное, остается неясным, какими именно методами машинного обучения пользовался автор для получения регрессионных моделей».

В отзыве на автореферат Мазина Павла Владимировича, кандидата биологических наук, старшего биоинформатика Института Сангера, указано, что «Методологически работа не вызывает сомнений, все сделанные выводы хорошо обоснованы». **Также приведен ряд вопросов и замечаний:**

1. Интересно, что хотя размер эффекта сравним для обоих изменений диеты, в случае ДБВ они сонаправлены в отличии от ОКП, хотя можно было бы ожидать обратного эффекта, так как ОКП содержит конкретную культуру казалось бы его прием должен вызывать увеличение представленности этой культуры в кишечнике. Чем это может объясняться?

2. Автор показывает, что микробиомы наиболее отличные от остальных микробиомов выборки до интервенции наиболее склонны к изменениям под воздействием интервенции. Не может ли этот эффект объясняться регрессией к среднему? Как в техническом смысле, так и биологическими. Ответить на этот вопрос можно было бы исследовав не общие изменения микробиома, а только ту его компоненту что коллинеарна среднему (по всем донорам) эффекту интервенции.
3. В последнем абзаце результатов указано, что часть наблюдаемых зависимостей объясняются “математической составляющей” и упоминается поправка призванная устранить эту составляющую. Не совсем ясно в какой степени приведенные до этого результаты сохраняются после введения поправки.
4. Предложение «В частности, остается открытым вопрос, насколько универсальны микробиотные признаки респондеров на различные типы диетических интервенций.» (4 страница) выглядит несогласованным.
5. В предложении «Впервые была освещена проблема вычислительной зависимости между степенью изменения микробиома кишечника и альфа разнообразием» (6 страница) не ясно что такое «вычислительная зависимость».
6. Не объяснено что означают линии на рисунке 1.

В отзыве на автореферат Федоровой Ольги Сергеевны, доктора медицинских наук, заведующей кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета Сибирского государственного медицинского университета, указано, что «Автореферат хорошо написан, иллюстрирован графиками и схемами. Выводы аргументированы и соответствуют задачам исследования. Результаты

исследования опубликованы в высокорейтинговых научных журналах и доложены на российской и международной конференциях».

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Впервые показано:

- что микробиомные признаки, определяющие степень изменения сообщества, схожи между различными интервенциями;
- что степень изменения микробиома в ходе диетических интервенций прямо коррелирует с отношением *Bacteroidetes:Firmicutes* (B:F) сообщества до интервенции;
- что степень изменения микробиома в ходе диетических интервенций обратно коррелирует со средним взвешенным предсказанным количеством генов на микроорганизм в сообществе до интервенции.

Разработаны методы:

- исследования зависимости степени изменения микробиома от его начального состава с использованием машинного обучения;
- предварительной оценки степени изменения микробиома по его составу путем оценки расстояния до множества других образцов крупной выборки, содержащей по одному образцу микробиоты на индивида.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что оно вносит вклад в понимание экологических механизмов функционирования кишечных микробных сообществ человека. Результаты, представленные в работе, указывают на то, что для обеспечения стабильности микробного сообщества необходим компромисс между отрицательно коррелирующими разнообразием сообщества и количеством генов в геномах составляющих его микроорганизмов.

Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что разработанные методы предварительной оценки

степени изменения микробиома по его составу для здоровых людей могут быть впоследствии адаптированы для больных людей, и использованы при разработке схем модуляции микробиома в целях профилактики и лечения заболеваний.

Свидетельства достоверности результатов исследования:

Результаты, полученные в работе, согласуются с представлениями о связи стабильности и функциональной избыточности сообществ. Наличие корреляции между альфа и бета разнообразием согласуется с результатами исследований из области теоретической экологии. Результаты ассоциаций между составом микробиома и потенциалом его изменения валидированы на независимой когорте.

Личный вклад соискателя состоит в планировании исследований, участии в постановке задач, теоретической разработке и практической реализации методов, анализе данных и написании статей. Результаты, описанные в диссертации, получены автором самостоятельно. В диссертации решены задачи, имеющие значение для развития исследований, направленных на дальнейшее изучение микробиома кишечника человека. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности «1.5.8. - Математическая биология, биоинформатика».

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация представляет собой завершённое научное исследование. По актуальности, новизне, практической значимости диссертация соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля, 2 августа 2016 г., 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20

марта, 11 сентября 2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

На заседании 27 июня 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Клименко Наталье Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 - Математическая биология, биоинформатика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали за - 14, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета 24.1.101.01,

доктор биологических наук, профессор



М.С. Гельфанд

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.101.01,

доктор биологических наук



О.В. Казенников

27 июня 2023

