



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**  
*им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова*  
Российской академии наук  
( ИБХ РАН )

ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997. Для телеграмм: Москва В-437, Биоорганика  
телефон: (495) 335-01-00 (канц.), факс: (495) 335-08-12, E-mail: [office@ibch.ru](mailto:office@ibch.ru), [www.ibch.ru](http://www.ibch.ru)  
ОКПО 02699487 ОГРН 1037739009110 ИНН/КПП 7728045419/772801001

08.06.2023 № 4.10-48-569

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ГНЦ ФГБУН  
Института биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук  
академик А.Г. Габитов



8 июня 2023 года

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Клименко Натальи Сергеевны

«Межиндивидуальная вариабельность изменений состава кишечной микробиоты при диетических интервенциях», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. – «Математическая биология, биоинформатика»

### Актуальность работы

Взаимосвязь комменсальной микробиоты кишечника и организма человека, ранее недооцененное, исследуется все более полно с использованием инструментов омикс-технологий. В настоящее время известно, что количество особей микробиоты одного только кишечника сопоставимо с числом клеток организма человека. При этом разнообразие метаболического функционала симбиотических микроорганизмов человека огромно, ведь суммарное количество их генов превышает число генов человека, примерно, в 150 раз. Активно исследуется роль микробиоты кишечника в различных заболеваниях, относящихся к пищеварительной системе человека, таких как ожирение, воспалительные заболевания кишечника, рак толстой кишки. Но своей собственной нишей влияние микробиоты кишечника человека не ограничивается: были показаны связи между микрофлорой кишечника и такими

заболеваниями как сахарный диабет, метаболический синдром, симптоматический атеросклероз, цирроз печени и многих других. В качестве терапии некоторых заболеваний, для которых показана связь с микробиотой, активно используется коррекция состава микробиоты путем подсадки микроорганизмов здорового донора пациенту - трансплантация фекальной микробиоты. Для создания грамотной и эффективной терапии подобных заболеваний необходимо понимание механизмов, лежащих в основе взаимодействия организма человека и его микробиоты.

Для решения этой нетривиальной задачи были предложены различные пути, такие как поиск возможных ассоциаций между различными физиологическими состояниями доноров и составом их микробиоты, поиск и исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе взаимодействия между микробиотой и самим организмом человека. В диссертации Клименко Натальи Сергеевны была выбрана стратегия изучения состава микробиоты кишечника человека и ее изменений при различных диетических интервенциях.

### **Научная новизна результатов исследования**

Все положения, выносимые на защиту, являются актуальными и основываются на современных методах исследования состава микробиоты человека и современных методах биоинформатического анализа. В частности:

- Проведено крупномасштабное исследование изменения микробиоты здоровых доноров (две выборки: 206 и 130 человек) в ответ на изменение их диеты. Данные получены при помощи секвенирования последовательностей гена 16S рРНК на платформе MiSeq (Illumina). Анализ данных и статистический анализ проведен согласно существующим на сегодня стандартам для подобных исследований.
- Были изучены различные характеристики микробиоты, такие как «альфа-разнообразие», среднее взвешенное предсказанное количество генов на бактерию в сообществе, соотношение бактерий типов *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Показана взаимосвязь между изменениями состава микробиоты в результате диетических интервенций и изученными характеристиками. При этом изменения, вносимые обеими исследованными пищевыми интервенциями, имели схожий характер.
- Предложена математическая модель, на основе машинного обучения, способная оценить возможные изменения состава микробиоты при диетических интервенциях. Показано, что состав микробиоты до интервенции имеет определяющее влияние на характер изменений, вносимых диетами.

### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Основной целью данной работы являлся анализ изменений состава микробиоты кишечника при двух диетических интервенциях, а именно при приеме обогащенного кисломолочного продукта и при диете, богатой пищевыми волокнами. Для достижения этой цели автором было поставлено 8 задач, решение которых потребовало использования современных методов определения состава микробиоты человека

(в том числе методов секвенирования на секвенаторе 2ого поколения) и использование актуальных биоинформатических алгоритмов анализа NGS данных. Все эти методы в полном объеме изложены в разделах «Методы». Сформулированные в работе выводы соответствуют поставленной цели и задачам и подтверждаются результатами экспериментов и проведенного биоинформатического анализа, степень достоверности которых не вызывает сомнения.

Диссертация изложена логично и последовательно. В работе приведены ссылки на 286 литературных источников, относящихся к предмету исследования.

Результаты, описанные в диссертационной работе, опубликованы в 3х статьях в рецензируемых научных журналах мирового уровня, а также были доложены на российской и международной конференциях.

### **Общая оценка работы**

Работа написана на 138 страницах текста и содержит главы/разделы «Введение», «Обзор литературы», «Методы», «Результаты», «Обсуждение», «Выводы», «Список использованной литературы» и «Приложения». Текст диссертации проиллюстрирован 33 рисунками, 6 таблицами и 4 приложениями. Библиографический указатель содержит 286 ссылок на работы, относящиеся к предметной области. Текст диссертации изложен литературным языком. В нем имеется небольшое количество грамматических ошибок и англицизмов, которые не мешают пониманию излагаемого в работе материала.

Во «Введении», изложенном на 6 страницах, автор обосновывает актуальность темы исследования. В нем же сформулированы цель и задачи диссертационной работы, и в отдельных разделах изложены научная новизна и практическая значимости, представлены положения, выносимые на защиту, и описана структура и объем диссертации. Автор подчеркивает степень достоверности и приводит описание своего вклада в исследование и данные о своих публикациях в рецензируемых научных журналах по теме диссертации.

В главе №1, «Обзор литературы», приводится подробное описание актуальных сведений о микробиоте кишечника человека и ее взаимодействии с самим организмом человека. Прежде всего в главе приводятся сведения об основных представителях микробиотного сообщества кишечника человека: о наиболее представленных отделах бактерий в составе микробиоты. Далее следует, подтверждаемое ссылками на научные литературные источники, описание того, каким образом микробиота кишечника может влиять на организм «хозяина»: влияние на различные системы организма, молекулярные механизмы, лежащие в основе симбиоза. Из этих рассуждений логичным образом вытекает описание того, каким образом изменение диеты может повлиять на состав микробиоты: как те или иные компоненты питания сказываются на микробиоте. В заключении описаны важные для понимания проведенного в работе исследования методы анализа микробиоты кишечника.

Следующие 3 главы («Глава 2. Межиндивидуальная вариабельность состава микробиоты городского населения и ее связь с рационом и другими характеристиками», «Глава 3. Влияние кратковременных диетических интервенций на состав микробиоты» и «Глава 4. Вариабельность ответа микробного

сообщества на диетическое вмешательство») представляют собой описание этапов исследования и оформлены однотипно: каждая глава содержит свой раздел «Методы», «Результаты» и «Обсуждение». Глава №2 посвящена анализу разнообразия микробиоты кишечника исследуемых выборок доноров. Глава №2 сопровождается подробным описанием изученных фактов о влиянии отдельных представителей микробиоты на организм человека и/или на другие симбиотические микроорганизмы. Глава №3 посвящена более детальному изучению тех изменений, к которым привели изменения пищевых предпочтений доноров. В ней исследуется как различные факторы изменчивости состава микрофлоры кишечника, так и к каким изменениям микробиоты приводили пищевые интервенции: не только на уровне отдельных представителей, но и на уровне таких характеристик всего сообщества в целом, как «альфа-разнообразие» и соотношение бактерий типов *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. В главе №4 проведен анализ поиска ассоциаций между степенью изменчивости микробиоты и различными характеристиками микробиотного сообщества, в результате чего была предложена модель для предсказания изменения состава микробиоты по данным о ее разнообразии до начала диетической интервенции.

В главе «Выводы» автор суммирует ключевые данные, полученные в ходе диссертационной работы.

#### **Рекомендации по использованию результатов диссертации**

Результаты, полученные в диссертационной работе Клименко Натальи Сергеевны, могут быть использованы и развиты в научных центрах медико-биологического профиля и лабораториях институтов Российской академии наук, в том числе: Федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральных научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства» и Государственном Научном Центре Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, занимающихся исследованиями соответствующего профиля.

#### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат полностью соответствует работе, описанной в диссертации, всесторонне проиллюстрирован 6 рисунками. Содержит выводы и список основных публикаций.

#### **Вопросы и замечания, возникшие при прочтении диссертации**

Основные вопросы и замечания:

1. В выводах делаются утверждения с пометкой: «существенно схожи между интервенциями различного типа». При этом в исследовании автор ограничивается 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 микробиотного 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), упомянутому в диссертации?

Минорные замечания:

8. 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.
9. 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.
10. В автореферате отсутствует Рисунок №7, на который имеется ссылка в том же автореферате.
11. 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».
12. Довольно необычно при чтении диссертации найти в ней описание ее же структуры и объема, как будто читаешь не саму диссертацию, а лишь автореферат.

Эти замечания ни в коей мере не снижают прекрасного впечатления от самой работы, которая вызывает большой интерес.

### **Заключение**

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».

Доклад Клименко Натальи Сергеевны по результатам ее диссертационной работы был заслушан и обсужден на семинаре отдела функционирования живых систем Государственного Научного Центра Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. На семинаре присутствовало 34 человека, протокол № 67 заседания семинара 27 апреля 2023 года.

Старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ГНЦ  
ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН)

Кандидат биологических наук Арапиди Георгий Павлович

Специальность: 03.01.04 – «Биохимия»

E-mail: [arapidi@gmail.com](mailto:arapidi@gmail.com)

Тел.: +7 (926) 471-14-20

Подпись Арапиди Георгия Павловича ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь ИБХ РАН

Доктор физико-математических наук Олейников Владимир Александрович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, 8(495)335-01-00, [office@ibch.ru](mailto:office@ibch.ru).

