

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, доцента Николенко Марины Викторовны на диссертационную работу **Мячиной Юлии Леонидовны «Влияние метаболитов вагинальной микробиоты на функциональное состояние клеток хозяина»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

### Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Мячиной Ю.Л. посвящена проблеме современной микробиологии и медицины – изучению механизмов двунаправленного взаимодействия вагинальной микробиоты с клетками макроорганизма. Несмотря на значительный прогресс в понимании роли бактериально - грибковых ассоциаций в поддержании здоровья репродуктивной системы, многие аспекты этого сложного симбиоза остаются нераскрытыми.

Тема исследования крайне актуальна и перспективна. Современные данные свидетельствуют о том, что нарушения вагинального микробиоценоза ассоциированы с повышенным риском инфекций, передающихся половым путем различной этиологии. Автором выявлена прямая корреляция между дисбиозом влагалища и длительной персистенцией онкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) с прогрессированием предраковых состояний шейки матки. Высокая частота встречаемости бактериального вагиноза (20–30 % среди женщин фертильного возраста) в сочетании с широким распространением ВПЧ-инфекции (более 80 % сексуально активных женщин) формирует еще и серьезную медико-социальную проблему.

Юлия Леонидовна справедливо акцентирует внимание, что ВПЧ необходимое звено в развитии рака шейки матки, но оно не является достаточным в реализации канцерогенеза. Ключевую роль в этом процессе, по-видимому, играет характер микробного окружения, определяющего локальный иммунитет, окислительный статус ткани и метаболическую активность эпителиоцитов. Дисбиоз выступает как кофактор, создающий условия, при которых вирус с большей вероятностью закрепляется и запускает патологический процесс. При этом фундаментальные механизмы, посредством которых метаболиты микроорганизмов (как представителей нормобиоты, так и условно-патогенных видов) модулируют жизнедеятельность клеток хозяина, изучены фрагментарно. Понимание этих механизмов необходимо для разработки новых подходов к профилактике и лечению гинекологических заболеваний, что соответствует современной стратегии персонализированной медицины.

Отдельного внимания заслуживают данные о том, что разные виды *Lactobacillus spp.* обладают неодинаковым защитным потенциалом: культуры, продуцирующие пероксид водорода, демонстрируют более выраженную антагонистическую и протективную активность по сравнению с непродуцирующими изолятами, такими как *Lactobacillus iners*. В то же время

метаболиты условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом (биогенные амины, ферменты), могут не только создавать условия для персистенции вируса, но и моделировать метаболизм и тип клеточной гибели, что потенциально способствует прогрессии неопластических изменений.

Таким образом, исследование влияния метаболитов вагинальной микробиоты на функциональное состояние различных типов клеток хозяина (эпителиоциты, нейтрофилы, трансформированные клетки) при ВПЧ-инфекцией, представляет значительный интерес с точки зрения фундаментальной науки и с позиции практического применения. Полученные данные могут лечь в основу новых терапевтических и профилактических стратегий в гинекологии.

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

Представленная работа является логически выстроенным, завершенным научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне. Цель и задачи исследования сформулированы четко и соответствуют названию работы. Для решения поставленных задач автором был использован комплекс современных методов: микробиологических (культивирование, идентификация, включая ПЦР), цитологических (работа с первичными культурами эпителиоцитов и клеточной линией HeLa), биохимических (МТТ-тест, оценка митохондриального потенциала), иммунологических (выделение нейтрофилов, оценка киллинговой активности) и статистических.

Название диссертации, цель, задачи и выводы находятся в полном соответствии. Каждое научное положение, вынесенное на защиту, подкреплено конкретными экспериментальными данными, представленными в соответствующих главах. Это свидетельствует о высоком уровне профессионализма автора.

Логика построения диссертации полностью подчинена цели исследования. В первой главе подробно проанализированы литературные данные о структуре вагинального микробиоценоза, его связи с ВПЧ-инфекцией и канцерогенезом, а также о перспективах использования лактобацилл. Во второй главе представлен достаточный объем материалов и методов. Третья, четвертая и пятая главы последовательно освещают влияние микробных метаболитов на три ключевых типа клеток-мишеней: эпителиоциты (в том числе ВПЧ-инфицированные), нейтрофилы и клетки карциномы шейки матки (HeLa). Такая структура позволила автору системно подойти к решению поставленной задачи.

Все научные положения, выводы и практические рекомендации строго обоснованы экспериментальными данными. На защиту выносятся три положения, каждое из которых является прямым следствием полученных автором результатов и отражает личный вклад диссертанта в науку. Выводы логично вытекают из содержания работы, конкретны и не содержат общих декларативных фраз.

### **Достоверность и новизна исследования и полученных результатов**

Достоверность результатов исследования обеспечивается репрезентативным объемом выборки (130 штаммов *Lactobacillus* spp., 10 штаммов *G. vaginalis*, материал от 111 женщин), использованием сертифицированных методик и современного аналитического оборудования. Все эксперименты воспроизводили троекратно для повышения надёжности данных, что соответствует требованиям статистической значимости. Автором корректно применены параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерии Манна-Уитни, Фишера) методы статистического анализа, а также двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA). Данные представлены в виде таблиц и наглядных диаграмм с указанием стандартных отклонений и уровня значимости.

Научная новизна работы является бесспорной. Впервые на большом клиническом материале установлено, что способность *Lactobacillus* spp. продуцировать пероксид водорода является определяющим фактором, влияющим на метаболическую активность и устойчивость эпителиоцитов к окислительному стрессу. Причем этот эффект имеет противоположную направленность для здоровых и ВПЧ-инфицированных клеток.

Впервые показано, что *Gardnerella vaginalis* оказывает дифференцированное воздействие на эпителиальные клетки: у здоровых клеток она снижает метаболическую активность и выживаемость, а у ВПЧ-инфицированных, напротив, стимулирует метаболизм и повышает устойчивость к окислительному стрессу, способствуя персистенции вируса.

Продемонстрирована штамм-специфичность и дозозависимость влияния внеклеточных метаболитов *Lactobacillus* spp. на киллинговую активность нейтрофилов. Показано, что биогенные амины (путресцин) стимулируют метаболическую и киллинговую активность нейтрофилов, раскрывая новый механизм патогенетического действия БВ-ассоциированной микрофлоры.

Впервые на модели клеток HeLa показано, что комплекс нативных метаболитов *Lactobacillus* spp. индуцирует апоптотический тип гибели опухолевых клеток в условиях окислительного стресса, в отличие от отдельных компонентов (лактат, пероксид водорода), которые вызывают некроз. Это открывает новые перспективы для понимания противоопухолевого потенциала вагинальной нормобиоты.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Работа имеет высокую теоретическую значимость. Полученные результаты существенно расширяют фундаментальные представления о механизмах межклеточных взаимодействий в системе «микробиота – клетки хозяина». Сформулировано новое теоретическое положение о том, что поддержание колонизационной резистентности определяется не только количественным, но и качественным составом микробиоты, в частности способностью *Lactobacillus* spp. продуцировать пероксид водорода. Автором

показано, что направленность метаболических эффектов микробных метаболитов зависит от исходного статуса клетки-мишени, что позволяет рассматривать вагинальную микробиоту как тканеспецифический регулятор клеточного гомеостаза и локального воспаления.

Практическая значимость работы также не вызывает сомнений. На основе полученных результатов Мячиной Ю.Л. созданы предпосылки для разработки постбиотических препаратов на основе внеклеточных метаболитов *Lactobacillus* spp. Обоснованы критерии направленного отбора пробиотических штаммов с заданными иммуномодулирующими и противоопухолевыми свойствами, что подтверждено получением патента РФ на изобретение (Патент № 2856925). Предложено использование уровня биогенных аминов в качестве дополнительного диагностического маркера риска персистенции ВПЧ и прогрессирования цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Результаты могут быть внедрены в клиническую практику для оценки функционального состояния микробиоты как предиктора эффективности терапии и риска развития онкопатологии, что соответствует задачам национального проекта «Здоровье» по повышению доступности высокотехнологичной медицинской помощи.

### **Структура и содержание диссертации, ее завершенность, качество оформления**

Диссертация Ю.Л. Мячиной представляет собой законченную научно-квалификационную работу, написанную хорошим научным языком. Структура работы классическая: введение, обзор литературы, материалы и методы, три главы собственных исследований (каждая из которых содержит обсуждение), заключение, выводы и список литературы.

Объем диссертации составляет 129 страниц машинописного текста, что является приемлемым для кандидатской диссертации. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 3 таблицами, которые наглядно отражают полученные результаты. Список литературы включает 139 источников, преимущественно зарубежных (последних лет публикации), что свидетельствует о глубоком знании автором современного состояния проблемы.

Первая глава (обзор литературы) раскрывает умение автора работать с первоисточниками. В ней критически осмыслены и систематизированы современные представления о таксономической структуре вагинального микробиоценоза, его функциональной роли в поддержании колонизационной резистентности, а также о связи дисбиотических состояний с персистенцией вируса папилломы человека и злокачественной трансформацией эпителия. Обзор завершается логичным переходом к обоснованию цели предпринятого исследования. Библиографический список, насчитывающий 139 источников, преимущественно опубликованных в последние 5–7 лет, свидетельствует о высокой степени проработанности темы и её актуальности.

Вторая глава («Материалы и методы») не вызывает замечаний. В ней детально и методически грамотно описан дизайн исследования, изложены

критерии включения и исключения пациентов, а также перечислены все применённые микробиологические, цитологические, биохимические и статистические методики. Особого внимания заслуживает масштаб проведённой экспериментальной работы: выделение и идентификация 130 штаммов лактобацилл от 111 женщин с различным вагинальным статусом, а также использование клеточной линии HeLa и первичных культур вагинальных эпителиоцитов, включая ВПЧ-инфицированные. Это подтверждает репрезентативность выборки, достоверность полученных результатов и высокий профессиональный уровень диссертанта.

Главы 3–5 представляют собой три завершённых и органично связанных между собой этапа исследования. В третьей главе охарактеризовано влияние микробных метаболитов на метаболическую активность и устойчивость к окислительному стрессу первичных эпителиоцитов (здоровых и ВПЧ-инфицированных). В четвёртой главе проведена оценка действия тех же факторов на функциональную активность нейтрофилов периферической крови. Пятая глава посвящена изучению селективного цитотоксического эффекта метаболитов в отношении клеток линии HeLa. Каждая глава завершается обсуждением, что облегчает интерпретацию экспериментальных данных и позволяет проследить логику исследователя.

Заключение и выводы работы сформулированы чётко, доказательно и полностью коррелируют с поставленными задачами, подтверждая завершённость научного исследования. Выносимые на защиту положения аргументированы экспериментальными данными. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, а основные результаты опубликованы в рецензируемых журналах, что соответствует требованиям ВАК.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации, в нем четко отражены актуальность, научная новизна, практическая значимость и основные результаты исследования.

#### **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

Основные результаты диссертации в достаточной степени опубликованы. По теме диссертации опубликовано 4 печатные работы, среди которых: 2 статьи в международных рецензируемых изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus (в том числе одна в журнале Q1 – International Journal of Molecular Sciences), 1 статья в журнале из списка ВАК, 1 патент на изобретение РФ (№ 2856925). Количество и качество публикаций полностью соответствуют требованиям п. 13 «Положения о присуждении ученых степеней» для кандидатской диссертации по биологическим наукам. Наличие патента дополнительно подтверждает практическую значимость разработок автора. Результаты работы были представлены и обсуждены на российских и международных конференциях, что подтверждает апробацию диссертации.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат отражает структуру и содержание диссертации, в нем полно представлены введение, основные результаты, выводы и список публикаций. Текст автореферата соответствует основным положениям, выносимым на защиту, и дает полное представление о выполненной работе. Замечаний по содержанию автореферата нет.

### **Соответствие специальности**

Содержание диссертации полностью соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки) в части исследований, посвященных изучению экологии и физиологии микроорганизмов, их роли в симбиотических взаимоотношениях с макроорганизмом, а также механизмов действия микробных метаболитов на клетки хозяина.

### **Достоинства и недостатки диссертационной работы, оценка научной работы соискателя в целом, замечания по работе, вопросы**

При общей высокой положительной оценке диссертационной работы, у оппонента возникли следующие вопросы и замечания, носящие дискуссионный характер и не влияющие на значимость полученных результатов:

1. Обоснуйте выбор первичных клеток влагалищной части шейки матки в качестве модельной системы: насколько эта модель отражает реальные условия взаимодействия микробных метаболитов с эпителием в контексте вагинальной микробиоты и колонизационной резистентности?

2. В работе многократно подчеркивается ключевая роль пероксида водорода, продуцируемого лактобациллами, как определяющего фактора. Однако известно, что концентрация  $H_2O_2$  в вагинальной среде зависит не только от продукции, но и от его разложения (например, при взаимодействии с ферментами антиоксидантной защиты и другими антиоксидантами). Проводили ли вы в своих экспериментах оценку стабильности пероксида водорода в условиях *in vitro* (в культуральной среде, в присутствии сыворотки)? Как вы думаете, могла ли реальная концентрация  $H_2O_2$  в ваших экспериментальных условиях отличаться от расчетной, и какое значение это может иметь для интерпретации ваших дозозависимых эффектов?

3. В главе 4 вы показали, что путресцин увеличивает дегидрогеназную активность нейтрофилов, но одновременно незначительно снижает долю клеток с высоким митохондриальным потенциалом. Как вы это объясняете? Может ли это быть связано с разобщением дыхания и окислительного фосфорилирования, что характерно для полиаминов, и как это влияет на итоговую киллинговую активность, которая возрастает?

4. Как вы интерпретируете одновременное наблюдение трёх эффектов — защиту эпителия, активацию нейтрофилов и цитотоксичность в отношении опухолевых клеток — не противоречат ли эти эффекты друг другу с точки зрения биологии воспаления и противоопухолевого иммунитета, и какой механизм вы считаете доминирующим в вашей модели?

## Заключение

Диссертационная работа Мячиной Юлии Леонидовны на тему «Влияние метаболитов вагинальной микробиоты на функциональное состояние клеток хозяина» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, а именно оценке способности вагинальной микробиоты регулировать функциональное состояние клеток хозяина, что имеет существенное значение для развития микробиологии и практической медицины.

Таким образом, диссертационная работа Мячиной Юлии Леонидовны по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Мячина Юлия Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

27.08.2026

4

М.В. Николенко

доктор биологических наук, доцент (03.02.03. - Микробиология), доцент, заведующий лабораторией микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий Университетского НИИ медицинских биотехнологий и биомедицины ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, профессор кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России. 625023, Российская Федерация Тюменская область, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54; тел. +7 (345) 220-21-89; e-mail: [tgmu@tyumsmu.ru](mailto:tgmu@tyumsmu.ru)

Подпись д.б.н., доцента Николенко Марины Викторовны, заведующего лабораторией микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий Университетского ПИИ медицинских биотехнологий и биомедицины ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, профессора кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России заверяю.

Ученый секретарь Ученого совета ФГБОУ ВО  
Тюменский ГМУ Минздрава России

27.08. 2026 г.



С.В. Платицына