



УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНЦ РФ — ИМБП РАН
д.м.н., академик РАН

О.И. Орлов

«07» 102 2024

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Государственного научного центра Российской Федерации —

Института медико-биологических проблем Российской академии наук

Диссертация «Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта у человека в условиях искусственной среды обитания» выполнена в лаборатории микробной экологии человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации — Института медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ — ИМБП РАН).

В период подготовки диссертации Шеблаева Анна Сергеевна работала в ГНЦ РФ — ИМБП РАН в должности научного сотрудника в лаборатории микробной экологии человека.

В 2015 г. окончила стоматологический факультет Московского государственного медицинского университета им. Евдокимова по специальности «Стоматология».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2024 г. в ГНЦ РФ — ИМБП РАН.

Научный руководитель:

Ильин Вячеслав Константинович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией «микробной экологии человека» ГНЦ РФ — ИМБП РАН.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Шеблаевой А.С. посвящена влиянию аутопробиотического препарата *S.salivarius* на микробиоценоз полости рта у человека в условиях экстремальной среды обитания.

Актуальность проблемы

В процессе полета космонавты подвергаются постоянным стрессогенным факторам, таким как: радиационное облучение, микрогравитация, следствием которой является перераспределение жидкостных сред организма, ограничение подвижности, изоляция, и многое другое (Стржижовский, 1998; Уйба и др., 2017; Ушаков и др. 2016; Баевский и др. 2013; Ларина и др. 2011; Garrett-Bakelman et al., 2019; Little et al., 2010; Yu et al., 2011; Crucian et al., 2015; Donaubauer et al., 2020; Wu et al., 2009). Все эти факторы приводят к изменению функциональной деятельности организма, в первую очередь это относится к сердечно-сосудистой системе, нарушении органов чувств и центральной нервной системы, мышечно-скелетным деформациям, а также изменениям приводящим к нарушениям колонизационной резистентности, затрагивающим практически все биотопы, включая пародонт. (Носков, 2000; Bettinelli et al., 2002; Prisk et al., 2014; Elliott et al. 1994; Сапецкий А.О. и др., 2017, Баранов и др. 2011. Ильин 2005).

Зубочелюстная система, включающая пародонт, является одним из звеньев комплексной системы организма. Воздействие на человека ряда факторов, присущих условиям космического полета, может приводить к изменению некоторых показателей функционального состояния полости рта вследствие формирования различного вида дисбиозов и вторичных иммунодефицитных состояний, приводящих к развитию воспалительных реакций слизистой полости рта и десен, снижению кровоснабжения пародонта как следствие синдрома вегетативной сосудистой дисфункции (Воронков и др., 2003). При наличии хронического стресса эти процессы могут привести к манифестации воспалительного процесса, приводящего к деструкции костной ткани, а также к экзогенной инфекции и эндогенным ее очагам, формирующимся на поверхности слизистых оболочек открытых полостей зубочелюстной системы (Шумилина и др., 2002). Общей тенденцией изменения физиологических показателей полости рта у обследуемых космонавтов было снижение скорости слюноотделения в 1,5 раза, которое приводило к ухудшению естественного очищения полости рта, увеличению содержания осадка в слюне более 5 %, обильному отложению зубного налета и камня, что сопровождалось изменениями состояния микрофлоры и антиинфекционной резистентности слизистых оболочек полости рта (Дубинин, 1985, Мальнева, 1997., Ильин и др., 2005; Ильин и др., 2019). Таким образом можно предположить, что экстремальные условия среды обитания, стрессогенные факторы могут стать провокационными для начала развития воспалительных процессов в ротовой полости и изменения микробиоценоза в сторону дисбиотических процессов, активации патогенных представителей микробиоценоза. Провокатором местного врожденного иммунного ответа являются бактерии (Свитич и др., 2013; Зорина, 2011), которых насчитывается более 700 видов (Junemann et al., 2012). Организм человека отвечает специфической и неспецифической формами реакции на воспаление. К специфической форме реакции относятся реакция антиген – антитело, где процессы, вызываемые антигенными воздействиями, в конечном счете производят в организме так называемые антитела непосредственно к данному антигену. Обеспечивается специфическая защита Т- и В-лимфоцитами. К неспецифической реакции относят более локальный ответ макрофагов и микрофагов, выделяющих лейкины, лизоцим, интерферон и т.д., системы комплемента, антимикробной устойчивости кожи и слизистых оболочек. (Рахманов, 1994; Макарова и др., 2008; Петров и др., 2000; Хаитов, 2000). Клетками, являющимися иммунным ответом, являются эпителиальные клетки, продуцирующие интерлейкин 8 (IL-8), который в свою очередь является хемоаттрактантом для нейтрофилов и продуцирует рост таких цитокинов как IL-1, IL-6 и TNF- α (Trevani et al., 2003) и соответствующее снижение провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин 10 (IL-10) (Gemmell et al., 2004; Page et al., 1997). В условиях космических полетов штаммы, являющиеся условно патогенными, могут стать вирулентными вследствие снижения защитных сил организма с последующим нарушением колонизационной резистентности, проявляющейся нарушением трех основных барьеров, первый из которых представлен протективной микрофлорой, второй состоит из эпителия покровных тканей и слизистых, третий представлен факторами клеточного и гуморального иммунитета (Ильин и др., 2014). В то же время имеются данные о состоянии организма в условиях гипоксии, где показано, что в условиях высокогорья снижается титр антител и снижается количество антителообразующих клеток (Гранов, 1991). Пребывание человека в условиях гипоксии приводит к снижению реактивности тимусзависимых лимфоцитов. Данные изменения носят стойкий характер. (Мураталиев и др., 2003).

Одним из методов повышения иммунной системы и нормализации микробиоценоза являются пробиотики. (Ильин и др., 2022; Stahl et al., 2016; Кайбышева и др., 2019; Грудянов и др., 2006). Пробиотики представляют собой апатогенные для человека бактерии, обладающие антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий,

обеспечивающие восстановление нормальной микрофлоры (Долгорукова и др., 2019). В настоящее время пробиотики используются в качестве активных добавок к пище, пробиотических продуктов, а так же в клинической практике, где нашли свое применение при таких заболеваниях как синдром раздраженного кишечника, заболевания желудочно – кишечного тракта, заболевания дыхательных путей, в акушерстве и гинекологии и др. (Симаненков и др., 2019; Соловьева и др., 2011; Донец 2015; Глушанова 2005). Прием пробиотиков также содействовал снижению воспалительных реакций в применении их для подготовки космонавтов в условиях искусственной среды обитания (Ильин и др., 2019). Таким образом, применение пробиотиков показало хороший результат, однако представляется, что для узких профессиональных групп было бы целесообразно использовать пробиотики, основанные на аутологичных микроорганизмах, представителях протективной микрофлоры представителей этих групп. Поэтому позволительно предположить большую эффективность от применения аутопробиотика, который, в отличие от пробиотика, имеет более персонафицированный характер, создается индивидуально с помощью культивации штаммов, образцы которых берут у конкретного пациента, тем самым предполагая, что штаммы, имеющиеся в организме индивида, будут усваиваться и удерживаться в организме лучше, нежели другие штаммы микроорганизмов. Согласно мнению Б. А. Шендерова (Шендеров, 1998), еще в период внутриутробного развития организм ребенка готовится принять микрофлору матери в качестве «своей», или, другими словами, у него формируется иммунологическая толерантность к нормальной микрофлоре (Ильин и др., 2013). На данный момент аутопробиотики используются как дополнительный источник микроорганизмов при заболеваниях пародонта, аутоиммунных заболеваниях, в эндокринологии, а также при антибиотикорезистентности у этиологического агента (Ипполитов, 2016; Ермоленко и др., 2017; Агеевец, 2012; Дятлов, 2013; Varoud, 2012). Можно предполагать, что использование аутопробиотика на основе протективной микрофлоры пародонта (*Streptococcus salivarius*) будет так же иметь успех при включении этой методики в комплекс методов, направленных на поддержание гомеостаза в условиях длительных пилотируемых полетах, применительно к задачам профессиональных и микробиологических рисков.

Новизна полученных результатов

Впервые была проведена сравнительная оценка бактериологического метода и метода хроматомасс-спектрометрии (МСММ) при оценке микрофлоры пародонта у лиц, находящихся в искусственно изменённой среде обитания. Впервые методом масс-спектрометрии микробных маркеров при длительной изоляции в гермообъекте изучался качественный и количественный состав условно-патогенной микрофлоры полости рта у испытуемых. Расширенный высокочувствительный анализ показал динамику изменений количества патогенной микрофлоры в зависимости от длительности нахождения в герметично замкнутом объекте, имитирующим капсулу космического корабля, а также рост таких представителей как: *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida spp.*, *Actinomyces spp.*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Corynebacterium spp.*, *Veilonella spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces viscosus*, *Klebsiella spp.*

Впервые была проведена оценка эффективности препаратов на основе штаммов слюварного стрептококка М-18. Проведенные исследования аутопробиотического препарата *S.salivarius* показали его большую эффективность в отношении условно патогенной микробиоты полости рта следующих культур: *Staphylococcus aureus*, *Prevotella spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp.*

Проведенное исследование микробиоценоза полости рта на основании методов бактериологического, метода масс-спектрометрии микробных маркеров и метода

иммуноферментного анализа показало улучшение биоценоза пародонта у участников эксперимента в измененной среде обитания.

Степень достоверности результатов, проведенных исследований.

Выводы по результатам диссертационной работы основаны на достоверных результатах, полученных при моделировании условий космического полета, а также условий, соответствующих определению «условия измененной среды обитания». Достоверность результатов экспериментов обусловлена достаточным количеством наблюдений и использованием современных методов диагностики исследования. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием общепринятых методов анализа данных. Интерпретация результатов осуществлялась на основе анализа данных мировой научной литературы по соответствующей тематике. Выводы и обсуждения сделаны на основании достоверных результатов, подтвержденных графиками и таблицами.

Оценка выполненной соискателем работы

По актуальности поставленной задачи.

По актуальности поставленных задач, методическому и научному уровню исследований, их новизне и практической значимости диссертационная работа Шеблаевой Анны Сергеевны является законченной научно-квалификационной работой, которая отвечает требованиям «Положение о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемых к диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Личный вклад диссертанта состоит в планировании и проведении исследований, интерпретации и анализе полученных результатов, написании статей и подготовке докладов. При выполнении диссертационной работы сам автор лично отбирал пробы у всех участников экспериментов для проведения методов: масс-спектрометрия микробных маркеров, бактериологический метод, метод полимеразной цепной реакции, иммуноферментного анализа. Также самостоятельно отвозил все материалы в лабораторию, в том числе материалы, используемые для приготовления аутопробиотического лиофилизата на основе штамма *S.salivarius*. Лично автором был поставлен эксперимент «Гипобария». По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах из перечня журнала ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science, 14 тезисов докладов, 1 свидетельство о регистрации базы данных.

Диссертационная работа Шеблаевой Анны Сергеевны «Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта у человека в условиях искусственной среды обитания» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.7. — Авиационная, космическая и морская медицина является научно-квалификационной работой, соответствующей поставленной цели и решаемым задачам. Положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно и научно обоснованы.

Диссертация соответствует требованиям п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертационная работа «Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта у человека в условиях искусственной среды обитания» Шеблаевой Анны Сергеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.7. — Авиационная, космическая и морская медицина.

Заключение принято на заседании секции «Космическая физиология и биология» ГНЦ РФ - ИМБП РАН.

На заседании присутствовало 14 человек. Результаты голосования: «за» - 14 чел., «против» - 0, «воздержалось» - 0, протокол № 6 от 14.12.2023 г.

Председатель секции

«Космическая медицина»

Ученого совета ГНЦ РФ - ИМБП РАН, д.б.н.



Баранов В.М.

Ученый секретарь секции

«Космическая медицина»

Ученого совета ГНЦ РФ — ИМБП РАН, к.м.н.



Федяй С.О.