

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Ипполитова Евгения Валерьевича на диссертационную работу Хераловой Натальи Ивановны на тему «Антимикробная активность нисосомального геля при инфицированном ожоге роговицы», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки)

Актуальность темы исследования

Патология роговицы инфекционно-воспалительной природы, развивающаяся в результате ожоговой травмы глаз является одной из основных причин потери зрения и представляет собой одну из наиболее серьезных проблем офтальмологии. Несмотря на огромный опыт лечения ожогов в отечественной и зарубежной офтальмологии, более 40% пострадавших становятся инвалидами по органу зрения.

Трудность лечения ожоговой травмы, особенно, химической природы, и её осложнений обусловлена многогранностью патогенеза данного процесса. В результате ожога, при нарушении целостности оболочек глаза, происходит контаминация внутренних структур условно-патогенными бактериями. Высокая вариабельность микробных возбудителей конъюнктивы, повышение роли оппортунистической, условно-патогенной микрофлоры и появление антибиотикорезистентной микрофлоры, приводит к инфицированию ожогов. Полная эпителизация послеожоговой эрозии роговицы в исходе ожогов легкой и средней тяжести с помощью консервативного лечения гарантирует сохранение предметного зрения, что подтверждает необходимость исследований, направленных на поиск новых лекарственных форм, обладающих не только антимикробной, но и регенерирующей активностью. Для успешного лечения пациентов с ожогами глаз различной тяжести необходима качественная диагностика повреждения и мероприятия, направленные на восстановление эпителиального покрова роговицы.

В связи с этим актуальным представляется разработка новых, таргентных антимикробных препаратов на основе дефензинов и низкомолекулярных плацентарных пептидов, что и явилось предметом поиска автора. Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Хераловой Натальи Ивановны безусловно является актуальной и значимой как в научном, так и в практическом отношении. Несомненно, цель и вытекающие из неё задачи актуальны как в плане фундаментальной науки, так и для практической медицины.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В результате исследования проведен сравнительный анализ нормобиоты слезной жидкости конъюнктивальной полости и роговицы у пациентов с бактериальными осложнениями химических ожогов и здоровых лиц. Для повышения биодоступности и биосовместимости автором отработана технология инкапсулирования пептидов в кремнийорганические ниосомы, а также доказана их антибактериальная активность. Несомненной новизной является использование разработанного и патогенетически обоснованного нового антимикробного препарата – ниосомальный гель на основе эндогенных антимикробных и низкомолекулярных плацентарных пептидов из тромбоцитарно-лейкоцитарной массы, как альтернативного метода антимикробного воздействия, что всесторонне подтверждено в лабораторной и аргументировано в экспериментальной части исследования.

Впервые на экспериментальной модели животных с химическими ожогами роговицы проведена оценка безопасности антимикробного ниосомального геля с пептидами, дана патоморфологическая и иммунологическая оценка воздействия данной лекарственной формы на процессы репарации и регенерации роговичной ткани и показана его эффективность. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов работы не вызывают сомнений.

Научные положения диссертации убедительно аргументированы, основаны на достаточном объеме материала.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертационной работе цель и задачи соответствуют исследуемой проблеме, обоснованы грамотным методическим подходом к исследованию. Достаточный объем материала, полученный как у здоровых пациентов, так и у пациентов с бактериальными осложнениями химических ожогов роговицы в количестве 100 культур (штамов) микроорганизмов. Экспериментальный материал для исследования эффективности лечения ожогов в эксперименте при применении антимикробного нисомального геля включал 30 кроликов породы шиншилла, а также применение современных и адекватных поставленным задачам методов исследований: клинический, бактериологический, диско-диффузионный и метод микроразведений для определения чувствительности тестируемых штаммов бактерий к дефензинам и антибиотикам, микроскопический и хромато-масс-спектрометрические методы исследования, биотехнологический и гистологический анализ полученных результатов, а также иммунологический анализ, проведенный на современном уровне, позволил автору сформулировать ряд научных положений, выводов, рекомендаций, имеющих высокую степень обоснованности и характеризующихся теоретической и практической значимостью.

Исследования адекватны поставленной цели и соответствуют сформулированным задачам. Проведен тщательный анализ полученных результатов с применением современных статистических методов исследования.

Выводы диссертации закономерно вытекают из основных положений, защищаемых автором, имеют научное и практическое значение.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Безусловно, имеет теоретическую и практическую значимость. Диссертантом на подготовительном этапе работы было проведено выделение эндогенных антимикробных и низкомолекулярных пептидов, их иммобилизация в кремнийорганические ниосомы, разработаны технические условия (ТУ № 9158-007-76858530-2019 от 11 ноября 2019 г.) на базе малого инновационного предприятия Ставропольского государственного медицинского университета «Регенерация», что позволило получить гель обеспечивающий пролонгированную эффективную доставку пептидов в зону очага инфицированного ожога.

При изучении видового состава нормобиоты слёзной жидкости больных с химическими ожогами роговицы диссертантка выявила преобладание в структуре возбудителей коагулазонегативных стафилококков (*Staphylococcus epidermidis* - 75,1%), что позволило подтвердить ведущую роль представителей нормальной микрофлоры кожных и слизистых покровов в этиологии инфекционных осложнений при ожогах глаза. Результаты исследования чувствительности выделенных стафилококков к ниосомальному гелю с пептидами продемонстрировали его антимикробную активность, превышающую в 2,8 раз традиционно применяемую 1% тетрациклиновую мазь.

Значимым результатом данного исследования при экспериментальных химических ожогах является доказательство эффективности и безопасности применения антимикробного ниосомального геля с пептидами в качестве наружного лечебного средства, что способствовало более раннему началу эпителизации и сокращению сроков лечения - в 2,2 раза. При использовании геля, по данным автора работы, выявлено снижение количества осложнений в 2,8 раза, причем васкуляризация роговицы уменьшилась с 81,2 % (при традиционной терапии) до 55,3 % случаев, что было впервые подтверждено проведенным морфологическим исследованием. Таким образом на основе экспериментального исследования, подтвержденного патогистологически,

доказана эффективность применения, что определяет перспективность его применения в клинической практике.

Полученные при выполнении диссертации данные используются в учебном процессе на кафедрах микробиологии, а также биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 31.05.2022 г.; акт внедрения от 31.05.2022 г.).

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Полученные результаты исследования были доложены Хераловой Н.И. на конференциях всероссийского и международного уровня и в полном объеме опубликованы в 14 печатных работах: 4 статьи в рецензируемых изданиях, 1 статья – в другом издании, 1 тезис – в рецензируемых изданиях, 8 тезисов — в материалах конференций.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Материалы диссертации изложены на 128 страницах компьютерного текста, и включают: введение, обзор литературы, описания материалов и методов исследования, три главы собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Работа иллюстрирована 16 рисунками и 20 таблицами. Исследования выполнены на кафедре микробиологии и лаборатории нанотехнологий лекарственных средств ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России в соответствии с планом НИР вуза. При статистической обработке результатов были использованы методы вариационной статистики, компьютерные программы «Microsoft Excel» и пакет программы статистического анализа «Statistica» версии 6.0. и Prism 5.0.

Во **введении** автор обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель и задачи исследования, излагает данные,

свидетельствующие о научной новизне и практической значимости работы, приводит положения, выносимые на защиту, а также данные об апробации работы, а также подробно представлены материалы и методы исследования, используемые в работе.

Обзор литературы подробно изложен в **первой главе**. Хорошим литературным языком с использованием преимущественно современных источников в нём обсуждаются такие вопросы как: распространенность микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам, методы определения их чувствительности, микробиота глаза в норме и при патологии, формирование биопленок при инфекциях глаз, роль цитокинов в формировании защитных механизмов органа зрения, механизмы повреждения роговицы при ожогах и современные методы лечения, нанотехнологии для доставки антимикробных пептидов.

Указатель литературы включает 229 источников (113 отечественных и 116 зарубежных).

Вторая глава. Дизайн исследования соответствует поставленным задачам и позволяет конструктивно достичь цель исследования. Исследование проводилось в три основных этапа в течение 2016–2020 гг. на кафедре микробиологии, в лаборатории нанотехнологии лекарственных средств, а также на кафедре офтальмологии СтГМУ. На первом этапе проводили исследования микрофлоры у пациентов с бактериальными осложнениями химических ожогов роговицы. Затем получали антимикробный ниосомальный гель с пептидами и изучали антимикробную эффективность ниосомальных гелей с пептидами к микроорганизмам, выделенным у пациентов с бактериальными осложнениями химических ожогов роговицы. Вторым этапом включал определение токсичности полученного антимикробного ниосомального геля, исследование уровня цитокинов у экспериментальных животных при инфицированном химическом ожоге роговицы. На третьем этапе работы проводили гистологическое исследование эффективности лечения ожогов в эксперименте при применении антимикробного

ниосомального геля и изучали его регенераторную способность после инфицированного ожога в эксперименте.

Собственные результаты исследований автора посвящены исследованиям микрофлоры у пациентов с бактериальными осложнениями химических ожогов роговицы и обоснованию возможностей их лечения.

В **третьей главе** достаточно подробно представлена разработка антимикробного ниосомального геля с пептидами, проведен анализ результатов различных антимикробного действия дефензинов диско-диффузионным методом и методом микроразведений в бульоне. После изучение токсичности антимикробного ниосомального геля с пептидами, что имеет большое значение для безопасности применения.

В **четвертой главе** также подробно изложены результаты экспериментального исследования на лабораторных животных (кроликах) эффективности антимикробного ниосомального геля с пептидами, которые показали высокую эффективность, что подтверждено морфологическим.

Подробно изложены и хорошо иллюстрированы патогистологические результаты экспериментальных исследований, что подтверждает возможность воздействия лекарственного препарата на различные звенья патогенеза заболеваний роговицы.

Завершает работу **заключение**, в котором автор обобщает полученные в результате диссертационного исследования результаты и формулирует **выводов**, которые полностью отражают поставленные в начале исследования задачи и полученные результаты, а также даны практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Перечень литературных источников свидетельствует о глубокой проработке автором накопленного опыта по исследуемой проблеме.

Автореферат диссертации и публикации автора отражают основные положения диссертационной работы.

Соответствие специальности

Тема диссертационной работы, объём проведённых исследований, основные положения и выводы, сформулированным автором, полностью соответствует специальности 1.5.11. - Микробиология (медицинские науки).

Принципиальных замечаний по представленной диссертационной работе нет. В ней имеются отдельные стилистические погрешности, не носящие принципиальный характер, которые не умаляют достоинств диссертационного исследования и не снижают научной и практической ценности работы.

В порядке дискуссии хотелось бы задать автору несколько вопросов:

1. Разработка методики пептидного синтеза и создание рекомбинантных белков были внедрены с целью уменьшения стоимости создаваемых препаратов. Насколько экономически выгодно выделять эндогенные дефензины?
2. Является ли данный ниосомальный гель универсальным? Где ещё его можно применять?
3. Какова дальнейшая судьба разработанного геля, будет ли он зарегистрирован, как лекарственная форма?

Заключение

Диссертационная работа Хераловой Натальи Ивановны на тему: «Антимикробная активность ниосомального геля при инфицированном ожоге роговицы», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки), выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Базикова Игоря Александровича является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача по изучению антимикробной эффективности разработанного ниосомального геля для лечения ожогов роговицы, инфицированных антибиотикорезистентными микроорганизмами.

По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Хераловой Натальи Ивановны отвечает требованиям п. 9-14

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021, № 1539 от 11.09.2021 г., с изменениями, внесёнными Постановлением Правительства РФ № 751 от 26.05.2020 г., № 1690 от 26.09.2022 г. «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а её автор, Хералова Наталья Ивановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России);

(Адрес: 127473, субъект Российской Федерации, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1, тел. +7(495) 609-67-00, e-mail: msmsu@msmsu.ru)

доктор медицинских наук,
профессор

Ипполитов Евгений Валерьевич

«17» января 2023 г.

Подпись д.м.н., профессора Ипполитова Евгения Валерьевича заверяю:

Ученый секретарь ученого совета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России);

(Адрес: 127473, субъект Российской Федерации, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1, тел. +7(495) 609-67-00, e-mail: msmsu@msmsu.ru)

доктор медицинских наук,
профессор

Васюк Юрий Александрович