

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, заведующей лабораторией кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Кафтыревой Лидии Алексеевны на диссертационную работу Хераловой Натальи Ивановны на тему: «Антимикробная активность ниосомального геля при инфицированном ожоге роговицы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности:

1.5.11. – микробиология

Актуальность темы исследования

Актуальность представленной диссертационной работы Хераловой Н.И. обусловлена задачами, которые ежедневно приходится решать офтальмологам в их стремлении повысить качество медицинской помощи и сохранить зрение пациентам, страдающим инфицированными ожогами роговицы глаза, которые составляют до 38% в общей структуре травматизма. По статистике при химических ожогах глаз 40-50% пострадавших становятся инвалидами, а в 8% случаев это является причиной слепоты.

Достижения медицины в области лечения инфицированных повреждений слизистой оболочки глаз включают использование новых высокоактивных антимикробных и биологических препаратов (модуляторов). К ним относят низкомолекулярные пептиды и цитокины, генная и клеточная терапия. Для стимуляции регенеративных процессов в роговице разработаны гомологичный фибронектин и другие клеточные продукты. В настоящее время выявлен положительный эффект фибронектина на раневой процесс при ожогах роговицы. Широкий спектр микроорганизмов – возможных контаминантов конъюнктивы и рост резистентности к

антимикробным препаратам в бактериальных популяциях снижает эффективность лечения инфицированных ожогов.

В связи с этим, важным и актуальным является диссертационное исследование Хераловой Н.И., направленное на изучение антимикробной эффективности ниосомального геля, обладающего выраженной не только антимикробной, но и регенерирующей активностью.

Диссертантом логично определена цель научного исследования, для решения которой сформулированы 6 задач, включающие разработку методики получения и изучению влияния антимикробных эндогенных пептидов в составе ниосомального геля на микроорганизмы при лечении инфицированного ожога роговицы.

**Научная новизна исследования и полученных результатов,
выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа посвящена разработке методики получения и изучения антимикробных свойств эндогенных пептидов в составе ниосомального геля на штаммы микроорганизмов, вызывающие инфицирование роговицы после ожоговой травмы. Новизна работы заключается в том, что диссертантом подобрана и обоснована комбинация эндогенных низкомолекулярных плацентарных пептидов, обладающих синергией, усиливающей антибактериальное действие, отработана технология инкапсулирования выделенных пептидов в ниосомы на основе которых разработан новый антимикробный гель. В экспериментах на животных с химическими ожогами роговицы изучено действие ниосомального геля с пептидами на уровень цитокинов в слезной жидкости. Показана их роль в регуляции механизмов заживления раны, заключающаяся в стимуляции выработки провоспалительных цитокинов (ИЛ-1), являющихся регулятором воспаления в организме при ожоговых повреждениях тканей глаза. Изучена регенераторная способность и проведены гистологические исследования

эффективности лечения инфицированных ожогов в эксперименте при применении ниосомального геля с антимикробным эффектом.

Научные положения, выводы и практические рекомендации рецензируемой работы, сформулированные соискателем, научно обоснованы и логически вытекают из результатов, полученных и проанализированных с использованием современных методов исследований.

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

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнения. Используемые в работе методические подходы адекватны поставленным целям и задачам исследования. Полученные результаты подтверждены большим объемом фактических материалов, применением широкого спектра методов исследования, в том числе микробиологических, гистологических, клинических, иммунологических и др., статистической обработкой данных. Достоверность выполненного исследования основывалась на проведении экспериментального апробирования и микробиологического сравнения. Выводы научно обоснованы, подтверждены экспериментально на животных и пациентах, логически вытекают из полученных результатов и соответствуют положениям, выносимым на защиту.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость диссертационной работы Хераловой Н.И. заключается в том, что данные, полученные в результате изучения антимикробных свойств ниосомального геля с пептидами, могут быть использованы для создания новых, эффективных, стабильных и безопасных препаратов с антимикробным действием для лечения инфицированных ран.

При изучении штаммов микроорганизмов, выделенных из слёзной жидкости пациентов с химическими ожогами роговицы, диссертант выявил преобладание в этиологической структуре *Staphylococcus epidermidis* (76,0%), что подтверждает ведущую роль представителей нормобиоты кожных покровов в этиологии инфекционных осложнений при ожогах глаза. Наличие *Staphylococcus aureus* (14%) и представителей энтеробактерий свидетельствует о том, что возбудители инфекций, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), характеризующиеся множественной резистентностью к антибиотикам, теоретически, могут вызывать воспалительные осложнения у госпитализированных пациентов, и в таких случаях разработанный диссертантом ниосомальный гель с пептидами может стать альтернативным препаратом.

Результаты диссертационной работы Хераловой Н.И. расширяют представление о этиологической роли представителей нормобиоты кожи в развитии бактериальных осложнений при химических ожогах роговицы.

Обоснованы новые методологические подходы на основе применения эндогенных антимикробных и низкомолекулярных плацентарных пептидов, капсулированных в кремнийорганические ниосомы, разработки ранозаживляющих средств для полноценного восстановления зрительных функций. Применение антимикробного ниосомального геля с пептидами показало более высокую эффективность в сравнении с традиционно лекарственными средствами: снижение числа осложнений, что, несомненно, будет оказывать влияние на работоспособность и уровень качества дальнейшей жизни пациентов, перенесших химические ожоги роговицы.

Выявленная антимикробная и регенераторная эффективность антимикробного ниосомального геля на модели инфицированного ожога роговицы у экспериментальных животных позволяет рекомендовать его применение для лечения инфицированных ожогов роговицы в клинических условиях, в том числе, обусловленными микроорганизмами с множественной, экстремальной или панрезистентностью к антибиотикам.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

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 (акты внедрения от 07.06.2021 г.).

Разработаны технические условия (ТУ № 9158-007-76858530-2019 от 11.11. 2019 г.) для производства антимикробного препарата на базе малого инновационного предприятия Ставропольского государственного медицинского Университета «Регенерация».

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, 8 тезисов - в материалах конференций. Основные результаты диссертационного исследования были представлены на международных и всероссийских научных конференциях: «Биотехнология: взгляд в будущее» (2017-2020 гг., г. Ставрополь), V Национальном Конгрессе бактериологов (2019 г., Москва).

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 128 страницах машинописного текста. Материалы диссертации включают введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, три главы собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы и практические рекомендации, список литературы, включающий 113 отечественных и 116 зарубежных источников.

В разделе **«Введение»** автор проводит обоснование актуальности проводимого исследования и степень разработанности темы, определяет цель, которая соответствуют требованиям ВАК РФ, предъявляемым к научным исследованиям. Достижению цели способствовало решение конкретных шести задач, поставленных автором. Сформулированы основные положения диссертационной работы, показана научная новизна и практическая значимость исследования, методология и методы исследования, определены пути внедрения результатов исследования в лечебную и учебную работу кафедр и клиник, личный вклад автора.

В первой главе «Обзор литературы» проведен детальный анализ 229 литературных источников, включающих 113 отечественных и 116 зарубежных авторов, посвященных изучаемой проблеме. Автором проанализирован опыт отечественных и зарубежных специалистов по распространенности микроорганизмов резистентных к антибиотикам, приведены данные о микробных сообществах нормобиоты глаза и при патологии, о роли цитокинов в формировании защитных механизмов органа зрения, о механизмах повреждения роговицы при ожогах и современные методы лечения.

Вторая глава посвящена изучению микроорганизмов, входящих в микробиоту глаза с осложнениями химических ожогов роговицы.

Третья глава посвящена разработке антимикробного ниосомального геля с пептидами: технология получения геля и оценка антимикробного действия дефензимов, используя два метода (диско-диффузионный и микроразведений в бульоне). Заканчивается глава изучением токсичности антимикробного ниосомального геля с пептидами.

В четвертой главе приведены результаты изучения эффективности применения антимикробного ниосомального геля с пептидами на экспериментальных животных при инфицированном химическом ожоге роговицы (изучены патоморфологические изменения у экспериментальных животных при лечении инфицированного ожога роговицы антимикробным

ниосомальным гелем с пептидами, определены уровень цитокинов, приведены результаты гистологического исследования эффективности лечения ожогов после применения ниосомального геля, а также результаты изучения регенераторной способности ниосомального геля с пептидами после инфицированного ожога).

В заключении диссертант анализирует полученные данные, сопоставляя их с данными литературы.

Выводы: работа завершается 6 выводами, основанными на полученных результатах, соответствуют поставленным цели и задачам, являются логическим завершением диссертационной работы.

Работа иллюстрирована графиками (5), диаграммами (2), таблицами (20). При статистической обработке результатов использованы методы вариационной статистики, компьютерные программы «Microsoft Excel» и пакет программы статистического анализа «Statistica» версии 6.0. Оценка достоверности различий между сравниваемыми величинами проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Достоверность различий принималась при $p \leq 0,5$.

Автореферат и публикации полностью отражают основные материалы диссертации.

Соответствие специальности

Тема диссертации, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют специальности 1.5.11 – микробиология (медицинские науки). Автореферат соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 и полностью отражает содержание диссертационной работы.

В процессе ознакомления с диссертационной работой возникли следующие вопросы замечания:

1. При какой температуре следует хранить ниосомальный гель с пептидами и сроки хранения препарата?

2. Можно ли использовать ниосомальный гель с пептидами для лечения

Акантамебного и грибкового кератита, а также других заболеваний?

3. Является ли гель универсальным? Где еще его можно применять?

Замечания:

1. В работе встречаются незначительное количество грамматических и стилистических ошибок.

2. Список сокращений не включает все использованные в тексте.

3. Диссертант правильно обозначает популяции микроорганизмов «микробиотой», однако в тексте часто встречается устаревший термин «микрофлора».

Перечисленные замечания не носят принципиального характера и не снижают теоретической и практической ценности диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Хераловой Натальи Ивановны «Антимикробная активность ниосомального геля при инфицированном ожоге роговицы», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки), выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Базикова Игоря Александровича, является законченной научной работой, в которой представлено новое решение актуальной научной задачи – разработка ниосомального геля с пептидами и обоснование его антимикробной эффективности при лечении ожогов роговицы.

Диссертационная работа по актуальности, научной новизне объёму проведенных исследований, и практической значимости соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений

Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 02 августа 2016 года № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 01 декабря 2018 года, № 751 от 26 мая 2020 года, № 426 от 20 марта 2021, № 1539 от 11 сентября 2021 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата медицинских наук, а её автор, Хералова Наталья Ивановна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.11. – микробиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (197101, Санкт-Петербург, ул. Мира 14);
телефон +7 (812) 6446350;
e-mail: kaflidia@mail.ru

доктор медицинских наук,

Кафтырева Лидия Алексеевна

16.01.2023 г.

Подпись Л.А. Кафтыревой заверяю:

Учёный секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (197101, Санкт-Петербург, ул. Мира 14);
Телефон +7(812)2331762;
e-mail: trifonovagt@pasteurorg.ru

Кандидат медицинских наук,



Трифонова Галина Федоровна