



Отзыв официального оппонента
на диссертацию Гоптаревой Екатерины Алексеевны «Антимикробная эффективность
ниосомальных гелей, модифицированных атомами серебра, при их воздействии на
микробную биопленку пародонта» на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы диссертационного исследования. Патология пародонта широко распространена среди пациентов стоматологических клиник. В ее развитии принимают участие многочисленные представители резидентной микрофлоры биопленки полости рта. Основное место, в качестве этиологических агентов пародонтитов, в настоящее время отводится определенным видам облигатных и факультативных анаэробов, обозначенных как пародонтопатогены 1-го и 2-го порядка.

Лечение пародонтитов носит преимущественно местный характер и обычно предполагает использование некоторых апробированных антимикробных рецептур на основе метронидазола и ацетилсалициловой кислоты или, при необходимости, антибиотиков.

Разработка новых лекарственных форм и технологий применения, способствующих повышению эффективности фармакокинетики препаратов, весьма актуальна для стоматологической практики. Развивающимся направлением такой терапии является таргетная доставка антимикробных средств в составе наночастиц кремнийорганической природы, обеспечивающих поступление в зону поражения необходимого количества препарата и его пролонгированный эффект.

Настоящая диссертационная работа посвящена созданию для лечения заболеваний пародонта нисомальных гелей, активное начало которых в виде комплекса фитоэкстрактов и низкомолекулярных пептидов животного происхождения включено в ниосомы, модифицированные атомами серебра, изучению их антимикробной активности в отношении пародонтопатогенной микрофлоры с оценкой конечного результата лечения по динамике клинических показателей.

Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций. Основные научные положения, заключения и выводы диссертационной работы подтверждены фактическим материалом, полученным в ходе экспериментальных и клинических исследований. Цель и задачи работы сформулированы на основании теоретического анализа актуальности избранной проблематики. Исследование выполнено с использованием современных, отвечающих поставленным цели и задачам, методов.

Основные научные положения, выносимые на защиту, касающиеся разработки ниосомального геля с использованием технологии инкапсулирования в ниосомы фитоэкстрактов и низкомолекулярных пептидов и модификации ниосом атомами серебра, обладающего антимикробной и регенерирующей активностью, и оценки его эффективности в отношении резидентной пародонтопатогенной микрофлоры в сравнении с традиционным лечением находятся в соответствии с результатами экспериментальных разделов диссертационного исследования.

Научная новизна полученных в диссертационной работе результатов состоит в разработке технологии модификации ниосом атомами серебра и получении данных относительно их антимикробной активности. Инкапсулирование в модифицированные ниосомы антимикробных фитоэкстрактов и низкомолекулярных пептидов позволило автору получить ниосомальные гели и впервые исследовать *in vitro* чувствительность к ним представителей микрофлоры биопленки полости рта; изучить динамику изменения частоты выявления генетических маркеров основных пародонтопатогенов до и после

лечения пародонтита ниосомальным гелем и впервые продемонстрировать его более высокую антимикробную и клиническую эффективность в сравнении с традиционными методами лечения.

Практическая значимость диссертационной работы определяется целесообразностью использования ниосомального геля, модифицированного атомами серебра в стоматологической практике при лечении заболеваний пародонта.

Опытные образцы ниосомального геля, зарегистрированные как медицинское изделие, применяются для лечения пациентов (при получении информированного согласия) в Клинике лазерной медицины ООО «ЛУЧ» и ООО «Дента Бьюти» в г. Ростова-Дону.

Разработаны технические условия (ТУ) для производства ниосомального геля на базе малого инновационного предприятия Ст ТМУ «Регенерация», г. Ставрополь.

Результаты, полученные в диссертационном исследовании, используются в ходе образовательного процесса на кафедрах микробиологии и стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета.

Структура и объем диссертации. Диссертация написана в традиционной форме: состоит из введения, обзора литературы, изложения материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, выводов и списка литературы. Библиографический указатель включает 220 источников, в том числе 120 – зарубежных исследователей. Работа иллюстрирована 15 рисунками и 9 таблицами. Объем диссертации – 114 страниц компьютерного текста.

Введение. Изложена актуальность и степень разработанности темы исследования, обозначены цель и задачи, приведены сведения о научной новизне, практической значимости работы и содержании основных положений, выносимых на защиту, этапах апробации диссертации, публикациях по теме исследования и структуре диссертационной работы.

Глава 1. Обзор литературы. Глава состоит из трех разделов, посвященных вопросам повышения эффективности антимикробной терапии при применении ниосомальных гелей. В обзоре представлены данные отечественных и зарубежных исследователей, касающиеся применения различных антимикробных препаратов для лечения заболеваний пародонта; приведены сведения об антимикробных свойствах наночастиц серебра; обсуждаются вопросы таргетной доставки лекарственных средств с помощью наночастиц.

Глава 2. Материалы и методы исследования. В главе описаны этапы исследования, а также комплекс современных методических приемов, использованных в работе: микробиологические методы определения чувствительности клинических изолятов биопленки полости рта к ниосомальным гелям; идентификация с применением ПЦР и тестового набора реагентов «МультиДент» пародонтопатогенных микроорганизмов; методы модификации ниосом атомами серебра, технология получения ниосомальных гелей, включая приготовление фитоэкстрактов и низкомолекулярных пептидов и их инкапсулирование в ниосомы, методы оценки токсичности геля на экспериментальных животных; цитологические и морфометрическое исследование лимфоцитов; методы оценки эффективности применения ниосомальных гелей (микробиологические и клинические); методы вариационной статистики.

Глава 3. Изучение антимикробной, иммунологической и клинической эффективности ниосомального геля с атомами серебра. В пяти разделах этой главы изложены основные результаты и достижения выполненной соискателем диссертационной работы.

В разделе 3.1. приведены данные электронной и атомно-силовой микроскопии, характеризующие структуру и размер ниосом, модифицированных атомами серебра, полученных исследователем.

Раздел 3.2. касается доклинического исследования токсичности антимикробного ниосомального геля на модели экспериментальных животных, позволившего соискателю прийти к заключению о его безопасности.

В разделе 3.3. проведена оценка антимикробной активности ниосомальных гелей, модифицированных атомами серебра. Исследована частота выявления маркеров пародонтопатогенов у здоровых лиц и у пациентов, страдающих заболеваниями пародонта, показано распределение маркеров по видовому составу пародонтопатогенов. Отмечено преобладание маркеров пародонтопатогенов 1-го порядка. Приведены сравнительные показатели снижения частоты выявления генетических маркеров в группах пациентов, получавших различное лечение, демонстрирующие максимальную эффективность ниосомального геля с атомами серебра. Для определения ингибирующего влияния ниосомальных гелей на микрофлору биопленки использованы клинические изоляты маркерных микроорганизмов и установлено, что антимикробная активность ниосомального геля с атомами серебра в 2 раза превышает действие геля, не модифицированного серебром.

Раздел 3.4. посвящен исследованию функциональной активности лимфоцитов в зоне повреждения слизистой оболочки пародонта. Для оценки функциональной активности лимфоцитов использованы методические приемы определения средней площади ядер лимфоцитов и суммарной площади ядрышковых организаторов. Показано, что применение ниосомального геля снижает степень реакции лимфоцитов на воспалительный процесс, протекающий в пародонте, что расценивается автором как результат положительного действия используемого препарата на течение заболевания и повышение лечебного эффекта.

Завершающий этап собственных исследований соискателя представлен в **разделе 3.5.**, в котором приведены результаты лечения пародонтита антимикробным ниосомальным гелем, модифицированным атомами серебра в сравнении с другими методами. Для выполнения этого раздела работы подобрана группа пациентов, страдающих воспалением тканей пародонта различной степени тяжести. Проведено клиническое обследование пациентов и определены гигиенические и пародонтальные показатели различных индексов и проб в группах больных, получавших различное лечение. По окончании срока лечения были исследованы клинические проявления, а также показатели, указывающие на возможное возобновление патологического процесса. При этом было установлено, что спустя 12 месяцев после окончания лечения ремиссия наблюдалась у 90% больных в группе, где применялся ниосомальный гель с атомами серебра, тогда как у больных, получавших традиционную терапию, по окончании лечения выявлялись нарушения кровообращения в области тканей пародонта, указывающие на возобновление воспалительного процесса.

В целом приведенные данные показали, что применение антимикробного ниосомального геля позволило сократить сроки лечения и получить более стойкий эффект лечения, который коррелировал со снижением показателей выявления маркеров пародонтопатогенной флоры.

Заключение. В заключении обобщены результаты выполненного исследования, проведен анализ полученных данных; соискателем высказано мнение относительно перспектив оценки состояния пародонта на основании клинического и

микробиологического статуса пациента с выявлением рисков возможного развития пародонтитов у здоровых лиц.

Выводы. По материалам диссертационного исследования автором сформулированы 5 выводов, соответствующих содержанию основных результатов, полученных в работе.

Соответствие диссертационной работы и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней». Теоретический и методический уровень выполненной работы, большой объем представленных экспериментальных данных и их анализ, а также доказательный иллюстративный материал делают научные положения диссертации обоснованными и аргументированными. Содержание автореферата полностью соответствует основному содержанию диссертационной работы. Приведенный список публикаций по теме диссертации (14 печатных работ, из них 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК) свидетельствует о достаточном освещении материалов исследования в периодических изданиях. Тема и содержание диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 03.02.03 – микробиология, пп. 2, 3. Личный вклад соискателя в выполнение исследований является основным.

Замечания, возникшие при рецензировании, относятся в основном к неточностям выражений или формулировок, допущенным в тексте. Так, не вполне правильными являются выражения «...инфекции являются полимикробными комбинациями...» (стр. 13) или «безрецептурное самолечение антибиотиками» (стр. 13), «...они действуют на амебы, лямблии...и другие анаэробные инфекции» (стр. 23).

Неточным следует признать формулировку положения 1, выносимого на защиту: «...увеличение количества и частоты выявления генетических маркеров...», поскольку использованная автором тест-система выявляла во всех случаях определенный набор генетических маркеров, а точнее – 5.

Следует признать некорректным вынесенное на защиту в данной диссертационной работе положение 4, так как его содержание не является результатом собственных исследований автора.

Неточности прослеживаются также в названии рисунков 9, 10 (стр. 54, 55), рисунка 13 (стр. 99).

Не отражает содержание полученных результатов заключение по разделу 3.3. В начале раздела 3.4., касающегося функциональной активности лимфоцитов (стр. 60-61), приведены данные электронной микроскопии биопленки полости рта, которые не имеют непосредственного отношения к материалу данного раздела и были бы уместны в иллюстрированном виде в другом разделе диссертации.

Вопросы. Некоторые материалы, приведенные в диссертации, освещены недостаточно и нуждаются в обсуждении.

1. Главной мишенью, на которую направлено действие антимикробного геля, являются пародонтопатогенные микроорганизмы (пародонтопатогены 1-го и 2-го порядка), диагностируемые по наличию соответствующих генетических маркеров. Какова роль этих микроорганизмов в развитии заболеваний пародонта? Какие биологические свойства определяют патогенный потенциал этой группы микроорганизмов? Какие другие микроорганизмы, представители резидентной микрофлоры, могут рассматриваться в качестве этиологических факторов заболеваний пародонта?

2. При исследовании распространения пародонтопатогенной флоры показано, что генетические маркеры пародонтопатогенов 1-го и 2-го порядка выявлялись у 34,6% здоровых лиц (группа контроля) и у 48% лиц с воспалительными процессами пародонта.

Как можно оценить диагностическое значение приведенных показателей? От каких факторов может зависеть варьирование этих показателей в той и другой группе?

3. В заключении по работе отмечено, что «эффект лечения коррелирует со значительным снижением резидентных и пародонтопатогенных микроорганизмов». Какие показатели носительства тестируемых микроорганизмов были выявлены спустя 6 и 12 месяцев после проведенного лечения и как они соотносились с аналогичными показателями в группе здоровых лиц?

Считаю необходимым отметить, что высказанные замечания не имеют принципиального значения и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы. Что касается вопросов, то содержание их носит дискуссионный характер.

Заключение. Диссертация Гоптаревой Екатерины Алексеевны «Антимикробная эффективность наносомальных гелей, модифицированных атомами серебра, при их воздействии на микробную биопленку пародонта» является завершенной научно-квалификационной работой. Соответствие работы специальности «микробиология» достаточно обосновано постановкой цели, задач, методическими подходами, полученными результатами, положениями, выносимыми на защиту и выводами. В целом, по значимости и актуальности поставленной проблемы, уровню методического подхода к ее решению, научно-практическому значению результатов рецензируемая диссертационная работа отвечает критериям пп. 9, 10, 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемых к кандидатским диссертациям. Автор работы Гоптарева Екатерина Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Официальный оппонент

Меринова Людмила Константиновна
доктор медицинских наук, профессор
главный научный сотрудник отдела научного
и информационно-аналитического обеспечения
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
400131, г. Волгоград, ул. Голубинская, 7.
Тел.: (8442) 37-37-74.
e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Подпись Л.К. Мериновой заверяю:
начальник отдела кадров
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора



Н.В. Бяхова