

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Рафальского Владимира Витальевича на диссертацию Болатчиева Альберта Добаевича на тему «Антибиотикорезистентность микроорганизмов при синдроме диабетической стопы и разработка препаратов дефензина для наружного применения при инфицированных ранах», представленную к защите в диссертационный совет Д 208.008.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы диссертации

В настоящее время проблема растущей антибиотикорезистентности остается значимой клинической, медико-социальной и экономической проблемой, определяя междисциплинарность направления в целом. Значимость обозначенной проблемы определяется тем, что инфекции, устойчивые к противомикробным препаратам, приводят к увеличению длительности пребывания больных в стационаре, что, в свою очередь, увеличивает летальность и финансовые затраты на лечение. В качестве яркого примера и клинической модели распространения антибиотикорезистентности в диссертационном исследовании приводится синдром диабетической стопы. Актуальность изучения данного осложнения сахарного диабета не вызывает сомнений, так как в последние годы наблюдается увеличение числа больных с данной патологией. Синдром диабетической стопы является основной причиной ампутаций нижних конечностей в настоящее время. Важно отметить, что назначение эмпирической антибиотикотерапии инфицированных язв при данном заболевании с позиции доказательной медицины невозможно без локального мониторинга состава и чувствительности микрофлоры, выделяемой из язвенно-некротических очагов.

Следует учитывать, что противомикробная терапия при синдроме диабетической стопы не всегда эффективна. Это связано не только с ростом

антибиотикоустойчивых штаммов, но и нарушенной микроциркуляцией, препятствующей эффективной доставке противомикробных препаратов к очагу воспаления, а также со сниженным иммунным статусом при сахарном диабете. Данные обстоятельства определяют необходимость разработки новых противомикробных препаратов для наружного применения, которые, во-первых, эффективно проникают в инфекционный очаг, а во-вторых обеспечивают преодоление антибиотикорезистентности. С данной позиции в диссертационной работе предлагается исследование возможности применения антимикробных пептидов (в частности дефензинов HNP-1 и hBD-1) как перспективных противомикробных препаратов, к которым не формируется устойчивость с течением времени.

Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Болатчиева Альберта Добаевича на тему «Антибиотикорезистентность микроорганизмов при синдроме диабетической стопы и разработка препаратов дефензина для наружного применения при инфицированных ранах», посвященная исследованию состава и антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных при синдроме диабетической стопы, а также разработке новых противомикробных лекарственных препаратов для наружного применения на основе дефензинов, несомненно востребована как с научной, так и с практической точки зрения.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В научно-исследовательской работе Болатчиева А.Д. впервые за последние 10 лет изучены локальные данные (г. Ставрополь) по составу и антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных у госпитализированных пациентов, страдающих синдромом диабетической стопы. Диссертант показал, что ведущим микроорганизмом при данном заболевании является золотистый стафилококк, а доля метициллин-резистентных штаммов составила 42,5%, что в сравнении с данными десятилетней давности демонстрирует существенный прирост.

Впервые автором у пациентов с синдромом диабетической стопы определены уровни дефензинов HNP-1 и hBD-1 в крови до и после проведенного лечения. Было показано, что уровень данных пептидов недостаточно высок для обеспечения адекватного иммунного ответа.

Впервые была показана возможность взаимодействия антимикробных пептидов с пептидогликаном. Изучен механизм бактерицидного действия дефензинов на клетки *S. aureus* в сравнении с цефотаксимом с помощью атомно-силовой микроскопии.

Впервые продемонстрирована антистафилококковая активность HNP-1 и hBD-1 в отношении метициллин-резистентных клинических штаммов *S. aureus*, а также исследован совместный антибактериальный эффект дефензинов и цефотаксима.

Впервые разработаны антимикробные препараты для местного применения, содержащие пептиды HNP-1 и hBD-1, инкапсулированные в кремнийорганические наноконтейнеры.

Впервые была показана высокая ранозаживляющая и антимикробная эффективность разработанных препаратов в экспериментальной модели инфицированной *S. aureus* раны у крыс.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений,
выводов и рекомендаций**

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы данными анализа достаточного клинического материала, включающего результаты микробиологического обследования, а также статистическим анализом данных экспериментальных исследований. Исследование четко структурировано, имеет спланированный дизайн и состоит из трех логически связанных этапов.

На первом этапе было выполнено бактериологическое исследование материала, выделенного из язвенно-некротических очагов у 748 пациентов,

находившихся на стационарном лечении в городской больнице №3 г. Ставрополя с диагнозом «синдром диабетической стопы» в период с 2015 по 2018 гг.

На втором этапе с помощью иммуноферментного анализа выполнено исследование содержания антимикробных пептидов в плазме крови пациентов с синдромом диабетической стопы до и после проведенного лечения.

На третьем этапе проводились экспериментальные исследования антистафилококковой активности дефензинов *in silico* (моделирование взаимодействия HNP-1 и пептидогликана), *in vitro* (анализ взаимодействия дефензинов и цефотаксима с поверхностью клеток *S. aureus* методом атомно-силовой микроскопии; определение минимальных подавляющих концентраций дефензинов; исследование антимикробного эффекта дефензинов при совместном применении с цефотаксимом) и *in vivo* (приготовление ниосомальных гелей с дефензинами и исследование их эффективности у крыс в модели инфицированной золотистым стафилококком раны).

Все полученные диссертационные данные подвергнуты тщательной статистической обработке. Выводы основаны на результатах проведенных исследований и логично вытекают из материалов диссертации. Это позволяет признать достоверность полученных результатов, сформулированных выводов и положений, выносимых на защиту. Полученные автором результаты позволили ему разработать практические рекомендации. Практические рекомендации обоснованы, информативны, имеют важное фундаментальное и прикладное значение для медицинской науки.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом,
замечания по оформлению**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми Министерством науки и высшего образования РФ. Работа

изложена в традиционном стиле на 147 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы (глава 1), описание материалов и методов исследования (глава 2), три главы собственных исследований (главы 3-5), обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Разделы работы выглядят сбалансировано по объему ее отдельных частей. Диссертационная работа иллюстрирована 20 таблицами и 13 рисунками. Список литературы достаточен и современен, включает 207 источников, включая 38 отечественных и 169 зарубежных авторов. Основные разделы диссертации логично согласуются с целью и задачами исследования.

Раздел «Введение» содержит обоснование актуальности проведенного исследования, степень разработанности проблемы, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов.

В первой главе, где автор демонстрирует хорошие знания современного состояния изучаемой проблемы, дается подробный анализ проблемы антибиотикорезистентности, ее эпидемиологии, причин формирования и распространения. Рассматриваются основные свойства антимикробных пептидов (дефензинов HNP-1 и hBD-1) и перспективы их практического применения. Кроме того, приводятся литературные данные по синдрому диабетической стопы и возможности использования дефензинов для разработки новых противомикробных препаратов.

Во второй главе представлено подробное описание дизайна исследования. Четко обоснованы материалы и методы, использованные в ходе диссертационной работы. Детально описаны микробиологические методы, метод атомно-силовой микроскопии, метод компьютерного моделирования, а также приведено подробное описание процесса

приготовления лекарственных форм на основе дефензинов и описан протокол их испытания на лабораторных животных.

Третья глава посвящена результатам исследования состава и антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных у пациентов с синдромом диабетической стопы в период с 2015 по 2018 гг. Подробно представлены перечни противомикробных препаратов в соответствии с их эффективностью в отношении выделенных микроорганизмов.

В четвертой главе представлены результаты исследования концентрации дефензинов HNP-1 и hBD-1 в крови у 20 пациентов с синдромом диабетической стопы до и после проведенного лечения в стационаре.

В пятой главе автор приводит результаты экспериментальных исследований: компьютерное моделирование взаимодействия дефензина HNP-1 и пептидогликана; сравнительная характеристика с помощью метода атомно-силовой микроскопии взаимодействия HNP-1 и цефотаксима с клеточной стенкой золотистого стафилококка; исследование антистафилококковой активности дефензинов (их минимальные подавляющие концентрации и индексы фракционной подавляющей концентрации при совместном применении с цефотаксимом в отношении клинических штаммов золотистого стафилококка); результаты исследования эффективности местного применения дефензинов, инкапсулированных в кремнийорганические наноконтейнеры у крыс в модели инфицированной золотистым стафилококком раны.

В разделе «Обсуждение полученных результатов» автор проводит сравнение своих результатов с данными отечественных и зарубежных исследователей.

Выводы и практические рекомендации логично резюмируют полученные сведения, являются обоснованными и достоверными и соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Все разделы

диссертации написаны логично, дают полный анализ проведенных исследований и каждый подраздел глав завершается обоснованным заключением. Основные выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все задачи решены, выводы обоснованы, логически вытекают из представленного материала и дают основание для практических рекомендаций.

Материалы диссертации опубликованы в 16 печатных работах, из них 5 в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикаций основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Значимость результатов, полученных в диссертации, для теории и практики

Научная значимость работы определяется данными, полученными в ходе экспериментальной части исследования. Был изучен механизм бактерицидного действия дефензинов и определены их бактерицидные концентрации. Кроме того, продемонстрированы фармакологические эффекты дефензинов, инкапсулированных в кремнийорганические наноконтейнеры – показана противомикробная и ранозаживляющая активность полученных лекарственных форм.

Практическая значимость результатов диссертационного исследования заключается в возможности оптимизации эмпирической антибиотикотерапии синдрома диабетической стопы на основании полученных данных. Кроме того, практическая значимость результатов диссертационной работы заключается в перспективе внедрения в клиническую практику противомикробных препаратов на основе дефензинов, что, несомненно, внесет значимый вклад в борьбу с антибиотикорезистентностью.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В тексте встречаются опечатки и минимальные стилистические погрешности, что не умаляет научной ценности диссертационной работы. В процессе знакомства с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Обоснуйте Ваш выбор в качестве препаратов сравнения цефотаксима и мази «Левомеколь». С чем связан выбор именно данных лекарственных средств?
2. В работе применялись антимикробные пептиды из класса дефензинов. Как были получены данные пептиды? Имеют ли они верифицированные аминокислотные последовательности?

Вопросы являются следствием интереса к работе и имеют целью уточнить отдельные результаты исследования.

Заключение

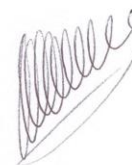
Диссертационная работа Болатчиева Альберта Добаевича на тему «Антибиотикорезистентность микроорганизмов при синдроме диабетической стопы и разработка препаратов дефензина для наружного применения при инфицированных ранах», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалифицированной исследовательской работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно классифицировать как решение актуальной задачи для научной специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология – поиск и разработка новых противомикробных препаратов для борьбы с антибиотикорезистентностью.

По научной новизне, практической значимости, методическому уровню выполненного исследования диссертация Болатчиева Альберта Добаевича на

тему «Антибиотикорезистентность микроорганизмов при синдроме диабетической стопы и разработка препаратов дефензина для наружного применения при инфицированных ранах» соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335 "О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней"), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук
профессор кафедры терапии,
директор Центра клинических исследований
Федерального государственного
автономного образовательного
учреждения высшего образования
«Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»



Рафальский Владимир Витальевич

Подпись доктора медицинских наук, профессора Рафальского Владимира Витальевича «удостоверяю»

236016, Российская Федерация,
г. Калининград, ул. А. Невского, д.14
Телефон: +7 (4012) 59-55-95
E-mail: post@kantiana.ru
v.rafalskiy@mail.ru



Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования

1. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике. Евразийские клинические рекомендации. Яковлев С.В., Елисеева Е.В., Суворова М.П., Дронов И.А., Сидоренко С.В., **Рафальский В.В.**, Захарова И.Н., Заплатников А.Л., Спичак Т.В., Таточенко В.К., Геппе Н.А., Малахов А.Б., Журавлева М.В., Белов Б.С., Гуров А.В. Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2017. № 1. С. 17-25.
2. Антибиотикорезистентность возбудителей неосложненных инфекций мочевых путей в Российской Федерации. **Рафальский В.В.** Вестник урологии. 2018. Т. 6. № 3. С. 50-56.
3. Резистентность возбудителей инфекций мочевыводящих путей и выбор антимикробной терапии: обманчивая простота. **Рафальский В.В.**, Довгань Е.В. Урология. 2017. № 3. С. 104-111.
4. Рациональный выбор антибактериальной терапии при урогенитальных инфекциях: взгляд фармаколога. **Рафальский В.В.** StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. 2017. № 1 (37). С. 84-96.

Согласен на оппонирование и размещение моих персональных данных в сети «Интернет», не являюсь членом Экспертного совета ВАК.

доктор медицинских наук
по специальности 14.03.06
Фармакология, клиническая фармакология,
директор Центра клинических исследований,
профессор кафедры терапии
ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта»

Рафальский Владимир Витальевич

Подпись В.В. Рафальского заверяю

236016, Российская Федерация,
г. Калининград, ул. А. Невского, д.14
Телефон: +7 (4012) 59-55-95
E-mail: post@kantiana.ru

