

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора фармацевтических наук Раменской Галины Владиславовны, на диссертационную работу Алиевой Камиллы Натиговны «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики в диссертационный совет Д 001.005.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»).

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Алиевой К.Н. посвящена прогнозированию риска развития резистентности *S. aureus* к линезолиду и изучению эффекта комбинации линезолида с даптомицином в отношении общей популяции и резистентной субпопуляции золотистого стафилококка в динамической системе *in vitro*. Динамическая система *in vitro* является инструментом фармакокинетико-фармакодинамического моделирования, позволяющего оценивать эффект антибиотика при его концентрации, меняющейся в соответствии с особенностями фармакокинетики человека. С помощью таких систем можно изучать особенности воздействия антибиотика не только на чувствительные к нему клетки бактерии, но и на их резистентные формы, и оценивать риск развития устойчивости к данному антибиотику в зависимости от его концентрации. Прогнозирование развития антибиотикорезистентности весьма актуально как подход к оптимизации схем применения антибиотиков. Рационализации антибиотикотерапии, в свою очередь, – важнейшее направление по решению проблемы устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам.

Таким образом, актуальность диссертационного исследования Алиевой К.Н. сомнений не вызывает и обуславливается необходимостью оптимизации и персонализации антибиотикотерапии.

Автором на хорошем научном уровне использованы подходы и методы обоснования теоретических положений, результатов и выводов, изложенных в трудах отечественных и зарубежных специалистов, раскрывающих вопросы антибиотикорезистентности. Проработанные литературные источники (243 источника, в том числе 231 на иностранном языке) свидетельствуют о надёжности теоретико-методологической базы рассматриваемого диссертационного исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту заявленной научной специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики, а именно пунктам:

2 – изучение спектров, механизмов избирательного действия химиотерапевтических средств, выработка рациональных методов их применения в медицине и других областях народного хозяйства;

7 - изучение токсикологических, фармакологических, фармакокинетических и фармакодинамических свойств, иммуномодулирующего действия химиотерапевтических препаратов в эксперименте.

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

Обоснованность полученных результатов обусловлена значительным массивом данных. Достоверность научных положений и выводов подтверждена в ходе статистической обработки полученных данных.

Основные положения работы были представлены на международных конгрессах European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), проходивших в Амстердаме (2016 и 2019 г), Вене (2017 г), Мадриде (2018 г); международной онлайн конференции FEMS Online Conference on Microbiology 2020; Научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний» (Москва, 2018); Научной конференции с международным участием «Вакцинология как ответ биологическим угрозам», посвящённой 100-летию основания НИИВС им. И.И. Мечникова, в секции «Наука в руках молодых учёных: Антибиотики» (Москва, 2019).

По результатам приведённых в настоящей работе исследований опубликовано 6 научных статей, 5 из которых – в журналах, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, в том числе 2 статьи в изданиях, входящих в первый квартиль, и 1 статья в издании, входящем во второй квартиль по импакт-фактору согласно рейтингу научных журналов SCImago (SJR, SCImago Journal Rankings); 3 статьи – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации результатов диссертационных работ.

Совокупность работ Алиевой К.Н., опубликованных по теме диссертации, подтверждает высокую степень обоснованности результатов, выводов и заключения проведенного исследования.

Личный вклад диссертанта

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. Автор, Алиева Камилла Натиговна, провела обзор, анализ и систематизацию научно-методической литературы, посвященной проблематике работы. Автор определила значения МПК и МПКМ антибиотиков в отношении исследуемых штаммов *S. aureus*, провела лабораторную селекцию мутантов *S. aureus*, выполнила эксперименты с *S. aureus* в динамической системе *in vitro*, моделирующей фармакокинетику линезолида и даптомицина при их введении в отдельности или в комбинации. Обработала и проанализировала результаты экспериментов. Вклад автора является определяющим на всех этапах исследования.

Общая характеристика диссертационной работы, ее завершенность

Диссертационная работа Алиевой К.Н. имеет традиционную структуру. Работа изложена на 172 страницах и содержит следующие главы: введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты исследований в двух главах, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы, приложения. Диссертация включает 4 таблицы, 42 рисунка и 6 приложений. В списке использованной литературы 243 источника, в том числе 231 – на иностранном языке.

В обзоре литературы рассмотрено современное состояние проблемы устойчивости бактерий к антибиотикам, описаны принципы моделирования фармакокинетических профилей антибиотика или комбинации антибиотиков в динамической системе *in vitro*. Крайне интересен раздел, посвященный гипотезе «окна селекции мутантов», позволяющей объяснить сложную взаимосвязь между концентрацией антибиотика и селекцией резистентных мутантов. Именно эта тема стала одной из основных при проведении экспериментальных исследований. Наибольший интерес применительно к экспериментальным исследованиям диссертанта представляет раздел, посвященный фармакокинетико-фармакодинамическим исследованиям в динамических системах *in vitro*, целью которых было изучение фармакодинамики антибиотиков и процессов развития к ним резистентности бактерий. Также были изучены материалы о взаимодей-

ствии линезолида с даптомицином.

В целом, обзор литературы даёт взвешенное представление о возможностях использования динамических систем для изучения эффекта антибиотиков на бактерии и их устойчивые формы, а также о результатах актуальных исследований в рамках темы диссертации. Материал изложен чётко, подробно и логично. Автору удалось обосновать необходимость проведения исследований, описанных в экспериментальной части диссертации.

В главе «Материалы и методы» охарактеризованы антибиотики, штаммы *S. aureus*, оборудование и расходные материалы; дано описание динамической системы, в которой проводились эксперименты, и перечислены параметры моделируемой в ней фармакокинетики антибиотиков; приведены формулы, применяемые при анализе экспериментальных данных.

Согласно полученным Алиевой К.Н. результатам, интенсивность селекции устойчивых к линезолиду мутантов золотистого стафилококка зависит от положения фармакокинетического профиля антибиотика относительно «окна селекции мутантов», что свидетельствует о применимости гипотезы «окна селекции мутантов» в отношении данной пары. На основании анализа зависимостей между развитием резистентности *S. aureus* к линезолиду и его концентрацией, выраженной при помощи фармакокинетико-фармакодинамических параметров, два параметра были признаны надёжными для прогнозирования эффекта линезолида в отношении резистентных мутантов *S. aureus* – ПФК/МПК_М (отношение площади под фармакокинетической кривой изменения концентрации антибиотика к минимальной концентрации, предотвращающей рост устойчивых мутантов, присутствующих в бактериальной популяции) и $T_{>МПКМ}$ (время в % от интервала дозирования, в течение которого концентрация антибиотика превышает уровень МПК_М). Используя соответствующие зависимости, автор определила пороговое значение МПК_М – 4 мкг/мл. В отношении штаммов *S. aureus* с более высоким значением МПК_М применение линезолида в терапевтической дозе сопряжено с риском развития к нему резистентности. С целью снижения выявленного риска при терапии стафилококковых инфекций может быть целесообразно сочетать линезолид с другими антибиотиками.

Диссертантом было обосновано, что способность антибиотика предотвращать селекцию резистентных мутантов может быть повышена при комбинированной терапии. Согласно собранной автором информации, комбинация линезолида с даптомицином представляла интерес в этом ключе. Действительно, по результатам опытов с одновременным введением линезолида и даптомицина на протяжении 5 дней (глава 4) были выявлены преимущества комбинированной терапии перед монотерапией с точки зрения снижения риска разви-

тия резистентности стафилококков не только для линезолида, но и для даптомицина. Хотя стоит отметить, что проведенные диссертантом исследования в данном направлении не включали выяснение оптимального соотношения антибиотиков в комбинации. Вопрос о роли соотношения антибиотиков в этом аспекте неизбежно встанет в ближайшем будущем. В связи с этим хочется подчеркнуть, что наряду с исследованиями фармакодинамики комбинаций препаратов в динамических условиях следует предусмотреть проведение классических экспериментов в статических условиях, направленных на поиск оптимального соотношения антибиотиков в комбинации.

Обращает на себя внимание методический подход к изучению воздействия комбинации на бактерии: автор определяла значения MPK_M антибиотиков в присутствии друг друга при соотношении их концентраций, идентичном соотношению моделируемых в динамической системе значений ПФК. Результаты экспериментов показали, что при клинически реализуемых режимах дозирования сочетанное воздействие антибиотиков на *S. aureus* подавляет развитие устойчивости к обоим препаратам и обеспечивает антистафилококковый эффект, схожий с эффектом даптомицина. Особое внимание автор уделяет объяснению таких результатов: усиление эффекта в отношении устойчивых клеток бактерии, или «антимутантного» эффекта, связано со снижением MPK_M антибиотиков в присутствии друг друга и следующим из этого возрастанием времени пребывания концентрации препарата в зоне подавления резистентности. Параметры $T_{>MPK_M}$ и $ПОМPK_M$ (площадь, ограниченная фармакокинетическим профилем антибиотика и его MPK_M), как было показано, применимы для прогнозирования вероятности развития резистентности *S. aureus* к линезолиду в комбинации с даптомицином.

В «Обсуждении» диссертант анализирует собственные результаты в купе с результатами ранее проведенных исследований в рамках изучаемой темы. Итог проведенного исследования сформулирован в «Заключении». Выводы достоверны, соответствуют цели и задачам исследования, основаны на экспериментальных данных и отражают основные положения диссертации.

Отмечается завершенность исследования и решение задач в полном объеме на достаточно высоком научно-методическом уровне.

Автореферат отражает содержание диссертационной работы и раскрывает ее основные положения.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Впервые установлены зависимости между селекцией устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus* и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами.

Впервые установлено, что для прогнозирования воздействия линезолида на устойчивые субпопуляции *S. aureus* наиболее применимы параметры ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$ (время в % от интервала дозирования, в течение которого концентрация антибиотика превышает уровень МПК_М).

Впервые установлено, что применение линезолида и даптомицина в комбинации позволяет предотвратить селекцию устойчивых к ним мутантов *S. aureus*, наблюдаемую при использовании каждого из препаратов в отдельности.

Впервые доказана применимость параметра $T_{>МПКМ}$ и интегрального параметра, определяемого как площадь, ограниченная фармакокинетическим профилем антибиотика и его МПК_М (ПОМПК_М), для прогнозирования вероятности развития резистентности *S. aureus* к линезолиду и даптомицину при их сочетанном применении.

Значимость для науки и практики результатов исследования

Подтверждена применимость гипотезы «окна селекции мутантов» в отношении пары «линезолид – *S. aureus*». Кроме того, применимость данной гипотезы была впервые подтверждена в отношении комбинации линезолида с даптомицином и *S. aureus*.

На основании анализа функциональных зависимостей между развитием резистентности и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами выбраны критерии, которые рекомендуется использовать для прогнозирования развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду – ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$, и к комбинации линезолида с даптомицином – $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М.

Определены пороговые значения МПК_М линезолида в отношении изученных штаммов золотистого стафилококка. Данные пороговые значения могут быть применены для оценки возможности развития резистентности у других штаммов этого вида при монотерапии линезолидом.

Показано, что применение линезолида в комбинации с даптомицином при терапии стафилококковых инфекций может снизить риск развития устойчивости *S. aureus*.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационное исследование К.Н. Алиевой, несомненно, имеет теоретическую и практическую значимость.

При общей положительной оценке диссертационной работы возникли замечания и дискуссионные вопросы, к числу которых относятся:

- мало внимания уделено генетическому анализу бактерий;
- недостаточное разнообразие штаммов (все характеризуются одним и тем же значением МПК линезолида), ставшее ограничением при анализе полученных результатов;
- кроме того, если бы фармакодинамические эксперименты с комбинацией линезолида и даптомицина включали поиск их оптимального соотношения, это бы увеличило практическую значимость работы.

Все указанные замечания и дискуссионные вопросы являются уточняющими, рекомендуемыми для дальнейшей работы, не носят принципиального характера и не снижают общую положительную оценку диссертационной работы К.Н. Алиевой.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным положением о порядке присуждения ученых степеней

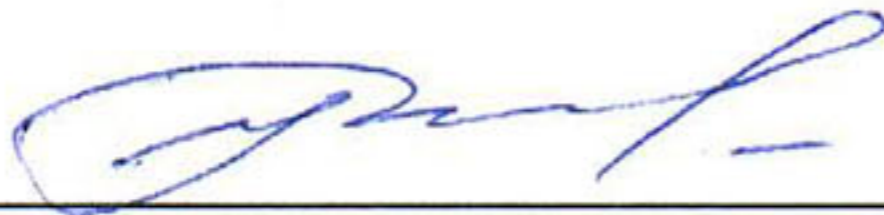
Диссертационная работа Алиевой Камиллы Натиговны на тему: «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*», выполненная под руководством член-корреспондента РАН, доктора биологических наук, профессора Фирсова А.А. и кандидата биологических наук Голиковой М.В., является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена важная задача по вопросам антибиотикорезистентности. Диссертация соответствует паспорту специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики (пункты 2 и 7).

По актуальности темы, научно-методическому уровню, полноте и объему проведенных исследований, их объективности, практическому значению представленная работа соответствует требованиям п.п. 9 - 14 «Положения о присуждении учёных степеней» ВАК РФ в редакции «Постановления Правительства РФ» № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями и дополнениями от 30 июля 2014 г., 21 апреля, 2 августа 2016 г., 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20 марта 2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор,

Алиева Камилла Натиговна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук (14.04.02 фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология), профессор, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева, директор института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)



Раменская Галина Владиславовна

119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

+7 (495) 609-14-00

+7-903-593-39-23

e-mail: ramenskaya_g_v@staff.sechenov.ru

« 08 » августа 2021 г.



Подпись Раменской Галины Владиславовны заверяю