

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента к.м.н. Гуляева Сергея Мироновича на диссертационную работу Соленовой Елены Александровны “Влияние изоликвиритигенина на течение экспериментальной стафилококковой инфекции”, представленную к защите в Диссертационный совет 99.0.045.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. – фармакология, клиническая фармакология**

### **Актуальность темы исследования**

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) характеризуется широкой распространностью и многообразием клинических проявлений, начиная от инфекций кожи и мягких тканей и заканчивая опасными для жизни патологиями, такими как пневмония, бактериемия, эндокардит и инфекционно-токсический шок. Несмотря на антибактериальную терапию, заболеваемость и смертность от инфекций, вызванных стафилококками, остаются высокими из-за сформировавшейся устойчивости их ко многим антибиотикам, включая ванкомицин. Полирезистентность к антибиотикам характерна для метициллин-резистентных штаммов стафилококков, которые способны вызывать генерализованные формы заболеваний. Это обстоятельство серьезно осложняет лечение и представляет собой важную медицинскую проблему. Основными причинами полирезистентности стафилококковой инфекции к антибиотикам являются необоснованное и нерациональное применение антибактериальных препаратов и ослабление функций иммунной системы. В настоящее время в практической медицине в этом аспекте существует большая потребность в усовершенствованных терапевтических подходах с введением новых антибактериальных средств против лекарственно-устойчивых бактерий. В этой связи, считаю, что диссертационная работа Солёновой Е.А. “Влияние изоликвиритигенина на течение экспериментальной стафилококковой инфекции” посвящена актуальной проблеме современной медицинской науки.

### **Научная новизна исследования полученных результатов**

Автором впервые установлена антибактериальная активность изоликвиритигенина на различных штаммах золотистого стафилококка в экспериментах *in vitro*. Показано, что изоликвиритигенин не оказывая влияния на поглотительную активность нейтрофилов и моноцитов крови в отношении *S. aureus*, повышал уровень продукции активных форм кислорода и интенсивность «кислородного взрыва». Изоликвиритигенин препятствовал образованию биопленки *S. aureus*, как самостоятельно, так и в комбинации с оксациллином или ванкомицином.

В экспериментах *in vivo* впервые установлено, что изоликвиритигенин повышал выживаемость мышей при генерализованной стафилококковой инфекции, вызванной штаммом *S. aureus* ATCC 25923. Изоликвиритигенин на 4 и 5 сутки после инфицирования животных уменьшал продукцию

цитокинов группы Th-1 (IL-2, IFN $\gamma$ ) и Th-17 (IL-6, GM-CSF, IL-17A) КонА-активированными клетками регионарных паховых лимфатических узлов и увеличивал синтез цитокинов Th-1 (IL-2, IL-12p70, IFN $\gamma$ ) и цитокинов Th-17 (IL-22, IL-23, IL-17A, IL-17F, MIP-3a/CCL20, IL-10) КонА-активированными спленоцитами.

### **Практическая значимость**

Результаты выполненной диссертационной работы Солёновой Е. А., имеют научно-практическое значение в вопросах антибактериальной терапии стафилококковых инфекций. Экспериментальные данные по исследованию антибактериальных свойства изоликвиритигенина могут служить основанием для разработки антибактериальных средств для лечения инфекционных заболеваний, вызванных стафилококковой инфекцией. Материалы диссертационной работы внедрены в учебные программы кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, кафедры органической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И. Н. Ульянова».

### **Структура и оформление диссертации**

Диссертационная рукопись объемом 122 страниц машинописного текста построена в традиционном стиле и состоит из введения, обзора научной литературы, главы материалов и методов исследований, трех глав собственных результатов исследований и обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы, который включает 180 источников, из них 169 – на иностранных языках. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 19 рисунками.

Во введении автором обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы ее цель и задачи, изложены научная новизна, теоретическая, практическая значимость полученных результатов исследований.

В главе “Обзор литературы” представлена научная информация о генерализованной форме стафилококковой инфекции и современные методы антибактериальной терапии. Автор рассматривает особенности иммунных ответных реакций организма при инфекции, вызванной *S. aureus*. Дано характеристика полифенольным соединениям: описана их структура, биологическая роль, антибактериальные и иммунотропные свойства. Представлены сведения об антимикробных и иммунотропных свойствах изоликвиритигенина.

Во второй главе автор описывает дизайн исследования, способы применения испытуемого средства (изоликвиритигенин) и препаратов сравнения (оксациллина, ванкомицина). Дано краткая характеристика, используемым штаммам *S. aureus* и условиям их культивирования. Описаны методы исследований *in vitro* для оценки минимальной подавляющей концентрации, влияния на формирование бактериальных биопленок. Приведено описание модели генерализованной стафилококковой инфекции, методов определения антибактериальной

и иммунотропной активности испытуемых средств и статистических методов анализа.

В третьей главе, посвященной описанию результатов собственных исследований, можно выделить три раздела. Первый раздел посвящен определению антибактериальных эффектов изоликвиритигенина и его комбинаций с антибиотиками в отношении разных штаммов *S. aureus* *in vitro*. Установлены минимальные подавляющие концентрации изоликвиритигенина на рост культур *S. aureus*. Сочетанное применение изоликвиритигенина с оксациллином или ванкомицином, но в меньших концентрациях ингибируют рост штаммов *S. aureus*. Автором показано, что изоликвиритигенин подавляет образование биопленок *S. aureus*. При этом его сочетание с оксациллином или ванкомицином ингибирует образование биопленок в меньших концентрациях относительно его минимальных подавляющих концентраций. Второй раздел посвящен оценке иммунотропного влияния изоликвиритигенина на функции фагоцитов и спленоцитов в экспериментах *in vitro*. В третьем разделе отражены результаты исследований на экспериментальной модели генерализованной инфекции, вызванной *S. aureus*. Проведена последовательная оценка антибактериального и иммунотропного эффектов изоликвиритигенина и его комбинаций с антибиотиками.

Четвертая глава посвящена обсуждению результатов экспериментов. Автор отмечает, что ингибирующее влияние изоликвиритигенина на образование биопленки обусловлено, как прямым антибактериальным действием, так и за счет стимуляции фагоцитоза. Изоликвиритигенин ингибировал гиперпродукцию цитокинов лимфоцитами регионарных лимфатических узлов при стафилококковом сепсисе, что снижало гиперреактивный иммунный ответ и способствовало повышению выживаемости животных. Напротив увеличение секреции цитокинов Th1 и Th17 лимфоцитами селезенки мышей автор рассматривает как эффективный ответ иммунной системы против циркулирующего в кровотоке возбудителя. Аргументировано обсуждая результаты работы, автор в заключении утверждает о наличии антибактериального и иммунотропного свойств у изоликвиритигенина.

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

Выполненный объем экспериментов, используемый набор методов, полученные результаты исследований с адекватной статистической обработкой данных и анализом позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а положения, выносимые на защиту, заключение и выводы вполне обоснованные.

Основные положения диссертации Солёновой Е. А. докладывались на научных конференциях различного уровня, результаты исследований представлены в 14 научных работах, из них 3 статьи – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, новизна и актуальность исследования

подтверждены грантовой поддержкой РФФИ по программе «Аспиранты».

При положительной оценке диссертационной работы Солёновой Е. А возникли вопросы:

1. В диссертации не упоминается о выполнении процедур внутреннего контроля качества исследований при работе со штаммами бактерий, в частности контроль чистоты роста культур, качества питательных сред и др.
2. За счет какого внутреннего механизма изоликвиритигенин оказывает ингибирующее воздействие на образование биопленки *S. aureus*?
3. На какие факторы вирулентности *S. aureus* может оказывать влияние изоликвиритигенин?
4. Почему на модели генерализованной стафилококковой инфекции не определяли бактериальную нагрузку на внутренние органы?
5. С какой целью осуществляли бактериальный посев крови ежедневно после инфицирования мышей?
6. Почему содержание цитокинов определяли только на 4 и 5 сутки после заражения мышей, в то время как максимальное повышение количества клеток селезенки и регионарных лимфатических узлов отмечали позднее – на 7-10 сутки эксперимента?

Однако вопросы не носят принципиального характера и не снижают положительной оценки диссертационного исследования.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертационной работы, включает основные результаты, оформлено в соответствии с современными требованиями.

#### **Заключение**

Диссертационная работа Солёновой Елены Александровны на тему «Влияние изоликвиритигенина на течение экспериментальной стафилококковой инфекции», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология, является самостоятельно выполненной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой отражен грамотный научный подход к решению актуальных вопросов современной фармакологии, связанных с поиском новых подходов к лечению генерализованных стафилококковых инфекций.

По актуальности темы, объему выполненных экспериментальных исследований, научно-методическому уровню, научной новизне, практической и теоретической значимости, диссертационная работа Солёновой Елены Александровны «Влияние изоликвиритигенина на течение экспериментальной стафилококковой инфекции»

соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г.№ 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:  
Старший научный сотрудник  
лаборатории экспериментальной фармакологии  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки «Институт общей  
и экспериментальной биологии»

Сибирского отделения  
Российской академии наук

к.м.н



Гуляев Сергей Миронович

Шифр специальности: 14.00.25 – фармакология, клиническая  
фармакология

«03» июня 2022 г.

670047, Республика Бурятия,  
г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.  
Тел.: (3012)43-42-11  
e-mail: s-gulyaev@inbox.ru.  
<http://www.igeb.ru/>

Подпись удостоверяю  
Ученый секретарь Института  
общей и экспериментальной  
биологии СО РАН *Ю.П.*

*копия для 1.Н.*