

ФМБА РОССИИ

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Детский научно-клинический
центр инфекционных болезней
Федерального
медико-биологического агентства»
(ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России).
адрес: 197022, Санкт-Петербург
ул. Профессора Попова, д.9
тел. (812) 234-60-04 факс (812) 234-9691
e-mail: niidi@niidi.ru; nii_detinf@fmbamail.ru
ОКПО 01966495, ОГРН 1037828009548
ИНН/КПП 7813045265 / 781301001

29.09.2021 №

на № от

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
ФГБУ «Детский научно-клинический центр
инфекционных болезней Федерального
медико-биологического агентства»

Доктор медицинских наук
А.Н. Усков



2021 г

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА) о научной и практической ценности диссертации Алиевой Камиллы Натиговны «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – «Химиотерапия и антибиотики».

Актуальность исследования.

Устойчивость патогенных микроорганизмов к антибиотикам – серьёзная проблема современной медицины. Она в полной мере касается оксазолидинонов (линезолида) и липопептидов (даптомицина). В клинике выявлено, что при длительных курсах лечения стафилококковых инфекций этими антибиотиками происходит развитие устойчивости патогенов. В связи с медленным внедрением в клиническую практику новых антибактериальных препаратов сохранение эффективности доступных антибиотиков приобретает особую важность.

Исследования в динамических системах *in vitro* позволяют устанавливать зависимость между эффектом антибиотиков в отношении общей популяции бактерий и их устойчивых субпопуляций и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами, рассчитываемыми на основании концентрации антибиотика и его активности в отношении чувствительных или устойчивых клеток изучаемой бактерии. На основании таких зависимостей можно выбрать режим дозирования антибиотика, предотвращающий селекцию резистентности.

Вышесказанное определяет актуальность диссертационной работы Алиевой Камиллы Натиговны, посвящённой прогнозированию развития резистентности *Staphylococcus aureus* к линезолиду и даптомицину при моделировании фармакокинетики данных антибиотиков, применяемых в отдельности и в сочетании друг с другом, в динамической системе *in vitro*.

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

Перечисленные результаты проведённой работы получены впервые:

- Установлены зависимости между селекцией устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus* и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами;
- Научно обоснован выбор фармакокинетико-фармакодинамических параметров, наиболее применимых для прогнозирования воздействия линезолида на устойчивые субпопуляции *S. aureus* – предикторов развития резистентности ПФК/МПК_М (отношение площади под фармакокинетической кривой изменения концентрации антибиотика к минимальной концентрации, предотвращающей рост устойчивых мутантов, присутствующих в бактериальной популяции) и $T_{>МПК_М}$ (время в % от интервала дозирования, в течение которого концентрация антибиотика превышает уровень МПК_М);
- 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;
- Доказана применимость параметра $T_{>МПК_М}$ и интегрального параметра ПОМПК_М, определяемого как площадь, ограниченная фармакокинетическим профилем антибиотика и его МПК_М, для прогнозирования вероятности развития резистентности *S. aureus* к линезолиду и даптомицину при их сочетанном применении.

Научно-практическая значимость полученных результатов и рекомендации по их использованию.

Оптимизации режимов антибиотикотерапии с целью предотвращения развития резистентности бактерий строится на знании закономерностей, лежащих в основе данного процесса, и зависимостей «резистентность – концентрация» для соответствующего препарата и возбудителя инфекции. Такие закономерности, согласно гипотезе существования «окна селекции мутантов», могут быть едины для всех антибиотиков и бактерий, как и форма зависимостей «резистентность – концентрация». Следовательно, развитие данной гипотезы и её распространение на большее число пар антибиотик-бактерия имеет высокую научно-практическую значимость.

В результате выполненной автором работы была подтверждена применимость гипотезы «окна селекции мутантов» в отношении линезолида, а также комбинации линезолида с даптомицином и *S. aureus*. Диссертант установила функциональные зависимости между развитием резистентности и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами. Были выбраны параметры, оптимальные для прогнозирования развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду, и определены пороговые значения MPK_M линезолида в отношении изученных штаммов бактерии, применимые для оценки риска развития резистентности у других штаммов этого вида при монотерапии линезолидом.

Согласно результатам представленного исследования, применение линезолида в комбинации с даптомицином при терапии стафилококковых инфекций может снизить риск развития устойчивости *S. aureus*.

Предложенные подходы к изучению и анализу фармакодинамики антибиотиков в динамических системах могут быть использованы в научно-исследовательских организациях при разработке и доклиническом изучении новых антибактериальных препаратов. Прогнозы антимутантных значений $ПФК_{24}/MPK$ имеют практическое значение для оптимизации режимов дозирования линезолида в клинике. Полученные автором результаты указывают на перспективность применения линезолида в сочетании с даптомицином для терапии стафилококковых инфекций с целью снижения риска развития устойчивости *S. aureus* к линезолиду и даптомицину.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключения.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключения рассмотренной диссертационной работы не вызывает сомнений.

В работе подробно описаны условия проведения всех экспериментов с перечислением оборудования и расходных материалов, теоретически обоснован принцип работы динамической системы для воспроизведения фармакокинетики антибиотиков, в том числе при их сочетанном применении. Показаны соответствующие схемы. Приведены формулы для вычисления объёмной скорости потока жидкости в системе, или нескольких объёмных скоростей в случае комбинации, которые используются для воспроизведения фармакокинетики препарата.

Фармакокинетику антибиотиков, а также терапевтические режимы их применения, в представленном исследовании моделировали на основе опубликованных в официальных изданиях результатов клинических исследований препаратов у людей (режим дозирования, период полувыведения, клинически реализуемые значения ПФК). Соответствующие ссылки приведены в полном объёме. Параметры фармакокинетики антибиотиков, соответствующие каждому из моделируемых режимов дозирования, указаны в таблицах. Проведена валидация работы динамической системы, подтверждено соответствие полученных в динамической системе профилей концентрации антибиотиков теоретическим.

Для получения достоверных результатов все эксперименты проводились в двух и более проворностях. Исследование эффекта антибиотиков в отношении общей популяции *S. aureus* и его устойчивых субпопуляций проводили с несколькими штаммами – двумя в случае линезолида и тремя в случае его комбинации с даптомицином. В этом смысле использование бóльшего количества штаммов стафилококка было бы целесообразным.

Полученные в всех экспериментах данные полноценно и наглядно представлены в диссертации: в работе содержится большое количество рисунков с подробным текстовым описанием. Подлинность результатов не вызывает сомнений. В диссертационной работе представлена информация о предыдущих исследованиях, представляющих научный задел по теме настоящей работы, а также обоснована новизна представляемого исследования и подчёркнуты его преимущества. Приведены все формулы, используемые для анализа полученных данных.

Выводы и заключение работы не противоречат полученным результатам.

Оценка содержания работы.

Диссертационная работа Алиевой Камиллы Натиговны построена по традиционной схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, двух глав результатов исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, приложений. Материалы диссертации изложены на 172 страницах, содержат 4 таблицы, 42 рисунка и 6 приложений. Список литературы включает 243 источника, в том числе 231 на иностранном языке.

Диссертационная работа имеет внутреннее единство и является законченным научно-исследовательским трудом. Все разделы работы соответствуют её теме. Полученные результаты представленной работы соответствуют поставленной цели исследования. Выводы и заключение основываются на результатах и соответствуют поставленной цели и задачам исследования.

Обзор литературы включает: краткий анализ проблемы резистентности бактерий к антибиотикам и возможностей её решения; описание принципа моделирования фармакокинетики антибиотика и одновременного моделирования фармакокинетики нескольких антибиотиков в динамической системе *in vitro*; анализ результатов фармакокинетико-фармакодинамических исследований в динамических системах *in vitro*, посвященных изучению фармакодинамики антибиотиков, процессов развития резистентности бактерий к антибиотикам, взаимодействия линезолида с даптомицином; характеристику линезолида и даптомицина.

В главе «Материалы и методы» дана характеристика линезолида, даптомицина и штаммов золотистого стафилококка, а также вспомогательного оборудования и расходных материалов. Подробно описаны условия экспериментов с указанием значений моделируемых фармакокинетико-фармакодинамических параметров. Приведены все формулы, используемые при воссоздании фармакокинетики препаратов в динамической системе и анализе полученных данных.

В результате проведённой работы автор получила новые данные о фармакодинамике линезолида и линезолида в комбинации с даптомицином в отношении устойчивых и чувствительных клеток *Staphylococcus aureus*. На основании полученных данных была подтверждена применимость гипотезы «окна селекции мутантов» для пары «линезолид – *S. aureus*». Установлены

зависимости между развитием резистентности *S. aureus* к линезолиду и его концентрацией, выраженной при помощи фармакокинетико-фармакодинамических параметров. Параметры ПФК/МПК_М и $T_{>МПК_М}$ признаны автором наиболее надёжными для прогнозирования эффекта линезолида в отношении резистентных мутантов *S. aureus*. Рассчитанное на основе этих параметров пороговое значение МПК_М было использовано для оценки риска развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду. Данная оценка показала целесообразность применения линезолида в комбинации с другими антибиотиками.

Значения МПК_М антибиотиков в присутствии друг друга определялись при соотношении их концентраций, соответствующем соотношению моделируемых в динамической системе значений ПФК. Показано, что сочетанное применение линезолида и даптомицина при моделировании режимов их дозирования, соответствующих клиническим, характеризуется сильным «антимутантным» эффектом в отношении золотистого стафилококка. Такой эффект обеспечивается благодаря снижению МПК_М антибиотиков в присутствии друг друга и следующему из этого возрастанию времени, в течение которого концентрация препарата превышает верхнюю границу ОСМ и оказывается в области концентраций, подавляющих селекцию резистентных мутантов. Это отражали параметры $T_{>МПК_М}$ и ПОМПК_М, значения которых увеличивались при сочетанном применении антибиотиков. Отмечен сходный антистафилококковый эффект комбинации линезолида и даптомицина и более эффективного антибиотика из сочетаемых – даптомицина.

В главе диссертационной работы, посвященной обсуждению результатов, содержится анализ установленных закономерностей и сравнительный анализ собственных и литературных данных.

В заключении отмечено значение полученных результатов для подтверждения применимости гипотезы «окна селекции мутантов», приведены перспективы использования данных результатов для оптимизации терапии заболеваний, вызванных золотистым стафилококком, линезолидом и его комбинации с даптомицином.

Замечания по представлению и оформлению работы отсутствуют. Тест работы чётко структурирован, изложен грамотным и понятным языком. Текст и рисунки дополняют друг друга. Грамматические и логические ошибки отсутствуют.

Соответствие содержания автореферата и опубликованных работ содержанию диссертации.

Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертационной работы. Основные положения и выводы автореферата совпадают с таковыми диссертации. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 и п. 25 «Положения о присуждении учёных степеней». Объём автореферата – 21 страница машинописного текста.

Содержание опубликованных работ соответствует содержанию диссертации. Выносимые на защиту положения диссертации опубликованы в рецензируемых журналах и доложены на научных конгрессах и конференциях.

Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности.

Тема диссертации Алиевой Камиллы Натиговны «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*» соответствует заявленной научной специальности 14.03.07 – «Химиотерапия и антибиотики» (биологические науки) по пунктам:

- пункт 2. Изучение спектров, механизмов избирательного действия химиотерапевтических средств, выработка рациональных методов их применения в медицине и других областях народного хозяйства;
- пункт 7. Изучение токсикологических, фармакологических, фармакокинетических и фармакодинамических свойств, иммуномодулирующего действия химиотерапевтических препаратов в эксперименте.

Замечания и вопросы по диссертационной работе.

Существенные замечания, влияющие на общую положительную оценку работы, отсутствуют. Основным недостатком работы является недостаточно подробный генетический анализ изученных штаммов *S. aureus*: не определён механизм резистентности к линезолиду у тех штаммов, у которых не выявили замену G2576T. Кроме того, работа приобрела бы ещё бóльшую клиническую значимость, если бы в работе был использован клинический штамм *S. aureus*, несущий детерминанты резистентности к линезолиду на мобильных генетических элементах, плазмидах: горизонтальный перенос генов резистентности между бактериальными штаммами, циркулирующими в стационарах, представляет серьёзную проблему для современного здравоохранения. Также не отслеживалось возможное развитие перекрёстной

резистентности к другим антибиотикам после воздействия линезолида или даптомицина на бактерии в процессе экспериментов.

Заключение.

Диссертационная работа Алиевой Камиллы Натиговны «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – «Химиотерапия и антибиотики», – это законченная научно-квалификационная работа, содержащая новые результаты изучения фармакокинетических и фармакодинамических свойств антибиотиков и новое решение по выработке рациональных методов их применения в медицине. Работа выполнена автором самостоятельно, что позволяет характеризовать диссертанта как специалиста, готового к самостоятельному решению научно-практических задач и владеющего методами проведения соответствующих исследований.

Соискатель показала умение объективно анализировать результаты работ российских и зарубежных учёных по теме исследования и сопоставлять их с собственными результатами.

Научная новизна и научно-практическая значимость работы, актуальность исследования, достоверность полученных результатов позволяют сделать заключение, что диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (ред. от 20.03.2021), и автор данной работы, Алиева Камилла Натиговна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – «Химиотерапия и антибиотики».

Старший научный сотрудник

НИО медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии
канд.мед.наук

Гостев Владимир Валерьевич

Отзыв на диссертацию Алиевой Камиллы Натиговны на тему «Прогнозирование развития резистентности *Staphylococcus aureus* в

экспериментах с линезолидом и его комбинацией с даптомицином в динамической системе *in vitro*» обсужден и утверждён на заседании Учёного совета Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства».

Текст отзыва принят единогласно (протокол № 7 от 28 октября 2021 г.).

Ученый секретарь
Доцент канд.мед.наук



Волжанин В.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства», 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.9.

Телефон: +7 812 234-60-04; Факс: +7 812 234-96-91; E-mail: niidi@niidi.ru.

