

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора биологических наук, профессора Слесаренко Н.А. на диссертационную работу Литвинова Юрия Юрьевича на тему: «Биотехнологические основы получения костных имплантатов и имплантационных препаратов», представленную к защите в диссертационный совет Д 999.095.03 при ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)**

### **Актуальность избранной темы**

Диссертация выполнена в рамках важнейшей фундаментальной проблемы, посвященной биоимплантологии и биотехнологии в области репродукции тканей, решение которой имеет важное прикладное значение для травматологии и реконструктивно-восстановительной хирургии. Не вызывает сомнения тот факт, что в настоящее время неуклонно растет число повреждений костно-суставной системы у человека и животных, связанных со снижением качества составляющих ее соединительнотканых образований в связи с влиянием на организм совокупности экзо- и эндогенных факторов и прежде всего ограничения подвижности - гипокинезии, которая, как известно, выступает в роли «биомеханического стрессора», инициирующего развитие в биотканях опорно-двигательного аппарата изменений деструктивного генеза. Вышеизложенное свидетельствует об актуальности избранной диссертантом темы.

В настоящее время данные, посвященные современным наукоемким технологиям получения имплантатов, используемых для остеоинтеграции, немногочисленны и фрагментарны. Так, отсутствуют сведения о адсорбционных биоимплантологических формах препаратов с использованием костной ткани в качестве сорбционной основы для иммобилизации биологически активных соединений, обеспечивающих их адресную доставку в область оперативного вмешательства для исключения

инфицирования и ускорения процесса репаративной регенерации, восстановления соединительной ткани в инфицированных ранах, резорбции и замещения имплантата новообразованной костной тканью.

Исходя из вышеизложенного, многие аспекты, разрабатываемой автором проблемы, являются дискуссионными и нуждаются в дальнейшем углублённом изучении.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Исследования проведены на базе Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений».

Исследование выполнено в рамках программы фундаментальных научных исследований РАН на (2013–2020) г. по направлению: «Исследование биологических структур на стадиях их формирования, функционирования и сохранения»; плана научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по пункту: «Репродукция клеток, тканей и органов для имплантации и эффективного биопротезирования», а также соответствует тематике фундаментальных научных исследований РАН на (2020–2030) г. по направлению: «Физиология опорного каркаса двигательных систем, репродукция и биопротезирование»

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 25 публикациях. Научная новизна подтверждена двумя охраноспособными документами (патенты № 2526429 от 11 апреля 2013 г и № 2630464 от 29 июля 2017 г).

Основные положения рассматриваемой диссертационной работы широко известны научной общественности, они представлены и обсуждены на межвузовских, международных, межрегиональных, всероссийских научно-практических конференциях; международных научных форумах; специализированных выставках: VII Всероссийский симпозиум с международным участием: «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Астрахань, 2017); Научно-технической конференции «Медико-технические технологии на страже здоровья» (Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017 г.); Международной научной конференции «Радиобиология: вызовы XXI века» (Гомель, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», 2017 г.); XIII Международной научной конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии ФРЭМЭ 2018» (Владимир-Суздаль, 2018 г.); Международной научной конференции «Радиобиология: актуальные проблемы» (Гомель, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», 2018 г.); На заседании секции по поиску биологически активных веществ и разработке лекарственных растительных препаратов Ученого совета ФГБНУ ВИЛАР (Москва, 2018 г.).

#### **Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций**

Сравнение цели и задач, декларированных автором с полученными им результатами, вынесенными на защиту положениями и заключением (выводами) выявило полное соответствие.

Цель представленной работы определена как теоретическое обоснование и усовершенствование биотехнологических приемов получения костных имплантатов; создание на их основе имплантационных препаратов для биоимплантологии.

Она предопределила решения ряда конкретных задач:

1. усовершенствовать методологию, включающую современные методы изготовления, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов;

2. провести экспериментальную апробацию предложенных методов;

3. осуществить оптимизацию технологии стерилизации костных имплантатов с использованием озонового метода;

4. исследовать сорбционную способность деминерализованного костного имплантата, динамику высвобождения адсорбированного лекарственного средства;

5. усовершенствовать биотехнологические приемы изготовления костных имплантационных препаратов с использованием антимикробного лекарственного средства для целей биоимплантологии;

6. предложить и обосновать показатели контроля качества, оценки безопасности костных имплантатов и имплантационных препаратов для биоимплантологии.

Выполнение этих задач позволило автору вынести на защиту следующие доказанные им положения:

1. биотехнологические основы получения нативных и деминерализованных костных имплантатов, методы их стерилизации;

2. полученный имплантационный препарат на основе стерильного деминерализованного костного матрикса и субстанции алкалоидов сангвинарина и хелеритрина;

3. разработанные показатели оценки качества и контроля безопасности на стадиях получения костных имплантатов и имплантационных препаратов.

Достоверность положений подтверждается применением адекватного комплексного алгоритма биомеханических, морфологических (световая и сканирующая электронная микроскопия), радиобиологических, фотометрических и микробиологических методов исследования,

выполненных лично соискателем на репрезентативном материале (240 образцов компактной костной ткани). Полученные данные зафиксированы документально и обработаны статистически, вследствие чего их достоверность не вызывает сомнений.

### **Новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

Широкая методическая база, скрупулезный анализ полученных данных, многократная апробация материалов в рецензируемых научных журналах и в форме устных подтверждают достоверные результаты исследования и имеют приоритетный характер, поскольку Ю.Ю. Литвиновым разработаны показатели контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов, усовершенствована методология контроля качества и оценки их безопасности.

Автором предложено научно-методическое обеспечение, позволяющее осуществить технологический цикл изготовления костных и деминерализованных имплантатов с иммобилизацией антимикробного лекарственного средства с целью ускорения процесса репаративной регенерации, а также отработаны биотехнологические приемы получения имплантационного препарата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса, обладающего в сочетании с иммобилизованным лекарственным средством, выраженными антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Результаты исследований являются теоретическим развитием ранее сформулированных базовых представлений, способствующих созданию костных ксенотрансплантатов для последующего их использования в регенеративной хирургии.

Автором модифицирована структура ксенотрансплантата с помощью разработанных им физико-химических методов.

На основании использованного комплексного методического подхода усовершенствованы биотехнологические приемы получения костных имплантатов. Разработана современная методология, включающая комплекс методов оценки качества и контроля безопасности имплантатов. Предложены высокотехнологичные методы изготовления костных имплантационных препаратов с антимикробными свойствами, а также предложен способ получения имплантационного препарата для снижения риска инфицирования в операционный и постоперационный периоды, обеспечения репаративной регенерации в инфицированных костных ранах.

### **Оценка содержания диссертации и автореферата**

Диссертация Ю.Ю. Литвинова представляет собой законченную в плане поставленных задач научно-исследовательскую работу, в которой решены важные актуальные вопросы в области биоимплантологии и регенеративной хирургии. Разработки автора отличаются глубиной исследования. Новые научные данные, полученные диссертантом, имеют существенное значение для клинической морфологии и реконструктивно-восстановительной хирургии.

Диссертация выполнена в традиционном формате с привлечением обширных данных литературы. Рукопись изложена на 149 страницах (включая приложения), состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка литературы и приложений. Иллюстрирована 64 рисунками 16 таблицами. Список литературы включает 139 источников, в том числе 122 отечественный и 17 зарубежных.

Во введении диссертантом обозначена актуальность проблемы, представлены цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, основные положения диссертации, выносимые на защиту, сведения о апробации, а также об объеме и структуре диссертации.

В главе 1 представлен анализ данных литературы, в котором рассмотрены строение костной ткани и основные методы изучения минерализованных биологических тканей, нозология заболеваний костной ткани и клинические аспекты ее восстановления. Автором представлен обзор материалов для изготовления имплантатов, требований, предъявляемых к костным имплантатам, а также современные методы их стерилизации. Показаны фармакологические свойства растительного лекарственного антимикробного средства «Сангвиритрин®» и эффективность его применения в клинической практике.

Обзор литературы проведен в достаточном объеме и отражает основные сведения, имеющиеся как в отечественных, так и зарубежных источниках. Стоит также отметить что библиографический список составлен в соответствии с ГОСТ 7.1-2003. Знакомство с данной главой свидетельствует о глубоком знании автором современной информации в области имплантологии. Однако стоит отметить что современные (за последние 5 лет) и зарубежные источники доступной литературы представлены в недостаточном объеме.

В главе 2 представлена характеристика объектов исследования и подробное описание использованных методических подходов.

В главе 3 диссертантом представлена схема эксперимента и результаты собственных исследований. Отражена методология и экспериментальная апробация методов изготовления, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов, представлена оценка сорбционных свойств

имплантатов и времени высвобождения лекарственных средств, а также описаны основы технологии получения костных имплантатов, деминерализованных костных имплантатов и деминерализованных костных имплантатов с антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

В главе 4 подведены итоги диссертационной работы с обсуждением полученных результатов исследования.

Главы имеют разделы и подразделы, что позволяет легко найти в работе необходимый материал.

Завершается работа заключением с 6 выводами, логично вытекающими из основных научных положений, представленных в диссертации.

Выводы корректны, отличаются новизной и весьма перспективны для дальнейшего использования в реконструктивно-восстановительной хирургии. Выдвигаемые автором положения аргументированно обоснованы богатым иллюстративным материалом, который по технике исполнения и документальной выразительности заслуживает высокой оценки.

Автореферат диссертации, объемом 18 страницы, соответствует разделам диссертации и отражает ее основное содержание.

Рецензируемая работа заслуживает в целом высокой оценки. Однако в процессе знакомства с диссертацией возникли вопросы и замечания:

1. В тексте диссертации встречаются неудачные формулировки и выражения, стилистические погрешности и опечатки (стр. 6, 11, 50).

2. Во введении диссертации и автореферата отсутствует подраздел «Публикации результатов по теме диссертации» с указанием общего количества статей и сколько из них опубликовано в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ.



3. В главе 1 по завершению обзора литературы отсутствует обобщающее заключение о степени изученности выбранной автором проблематики.

4. Глава 4 «Обсуждение полученных результатов» в диссертации пронумерована под главой 5.

5. Диссертанту стоило бы в работе рекомендации по использованию научных выводов, которые подчеркнули бы актуальность и большую практическую значимость проведенного исследования.

Вместе с тем, указанные замечания в целом не снижают значимость выполненных исследований, ценность и обоснованность полученных результатов.

В процессе рецензирования работы также возникли следующие вопросы к диссертанту:

1. Чем обусловлен выбор в качестве материала для исследования компактной кости крупного рогатого скота?

2. Чем был обусловлен возраст экспериментальных животных от 1,5 до 2 лет?

3. Какое преимущество имеют костные имплантаты в отношении своих аналогов из других материалов?

4. Какие свойства костной ткани как природного биокompозита обеспечивали биологическую совместимость и регенеративную активность разработанного имплантата?

5. Проводились ли клинические испытания костных имплантатов на экспериментальных животных?

### **Заключение**

Работа является законченной научно-квалификационной работой, в которой усовершенствованы биотехнологические приемы получения костных имплантационных препаратов. Диссертация Литвинова Ю. Ю. на тему: «Биотехнологические основы получения костных имплантатов и

имплантационных препаратов», является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой.

По актуальности, объему материала, методическому уровню исследования, новизне полученных результатов, научной и практической значимости диссертационное исследование соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, г. Москвы в редакции постановления Правительства РФ от 30 июля 2014 года № 723, г. Москвы предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)

Официальный оппонент,  
заведующий кафедрой  
анатомии и гистологии животных  
имени профессора А.Ф. Климова  
ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА  
имени К.И. Скрябина,  
заслуженный деятель науки РФ,  
доктор биологических наук,  
профессор

Н.А. Слесаренко

Адрес: 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23  
тел.: 8 (495) 377-71-19 e-mail: slesarenko2009@yandex.ru  
web-сайт: <http://mgavm.ru>

Подпись доктора биологических наук, профессора Н.А. Слесаренко заверяю.

Ученый секретарь  
ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА  
имени К.И. Скрябина  
кандидат сельскохозяйственных наук,  
доцент



С.С. Маркин

29 мая 2019 г.