

В диссертационный совет Д999.095.03 при ФГБОУ высшего образования "Российский химико-технический университет им. Д. И. Менделеева" от

доктора медицинских наук, профессора гр. Докторова Александра Альбертовича, 14 ноября 1954 года рождения, место рождения: гор. Минск, гражданство: Российская Федерация, пол: мужской, паспорт гражданина Российской Федерации 45 00 346379, выданный ОВД "Преображенское" паспортный стол №2 гор. Москвы 24 октября 2000 года, код подразделения 773-030, зарегистрированного по месту жительства по адресу: гор. Москва, Сиреневый бульвар, дом 3 (три), корп. 3 (три), кв. 196 (сто девяносто шесть), телефон: 89057954158.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ЛИТВИНОВА Юрия Юрьевича
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ И ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии).

Актуальность темы диссертационного исследования Литвинова Ю. Ю. не вызывает сомнений, поскольку оно посвящено разработке новых лекарственных форм для оперативного лечения инфекционных заболеваний кости. Применение с такой целью растительных алкалоидов мало изучено.

Новизна, самостоятельность и оригинальность исследования.

Тезис о «разработке» новой лекарственной формы, путем «усовершенствования» соискателем методики создания имплантатов из деминерализованного костного матрикса, не соответствует действительности, поскольку:

- вся методология подраздела «Обработка кости», хоть и написана другими словами, но по сути без изменений взята из кандидатской (М., 1985) и докторской (М., 1998) диссертаций И.В. Матвейчука, ссылок на это нет;

- подраздел «Определение биомеханических характеристик кости» повторяет полностью методики работ И.В. Матвейчука (там же) и также без ссылок;

- методология раздела «Оценка сорбционных свойств имплантатов и времени высвобождения лекарственного средства», повторяет более, чем 20 лет назад опубликованные работы Г.А. Ребровой с соавторами (Реброва Г.А., Денисов-Никольский Ю.И., Василевский В.К., Докторов А.А., Матвейчук И.В., Синькова И.А. Применение коллагеносодержащих биополимеров в качестве носителей лекарственных препаратов//Биомедицинские технологии: сб. научн. работ/Труды межведомственного научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий.

- Москва, 1996. - Вып.3. - с.48-51; Реброва Г.А., Денисов-Никольский Ю.И., Докторов А.А., Василевский В.К., Матвейчук И.В., Панкратова Г.В., Михалев А.П., Володина Т.В., Лисаковский С.В. Биохимическая и морфологическая характеристика коллагеносодержащих материалов, стимулирующих остеогенез. Сообщение 1. Биохимическая характеристика костного порошка // Биомедицинские технологии: сб. научн. работ/Труды межведомственного научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий. - Москва, 1997. - Вып.6. - С.20 - 26) по изучению деминерализации кости в ЭДТА, растворах уксусной, муравьиной и соляной кислот; пропитки 0,25%, 0,5% и 1% сангвиритрином цилиндрических образцов деминерализованной кости и динамики выхода сангвиритрина из них в воду, физраствор, 0,5 М раствор уксусной кислоты и 10% раствор NaCl (начиная с построения калибровочной кривой и заканчивая фотометрией). «Доказательство» соискателем отсутствия химического взаимодействия между алкалоидами и коллагеном костного матрикса взято отсюда же, хотя в выводах преподносится как собственное. Эти работы не процитированы ни в диссертации, ни в патенте №2679121, на который ссылается Ю.Ю. Литвинов, как в смысле повторения комплекса использованных там методов, так и сходства полученных результатов. При этом целью работ Г.А. Ребровой с соавторами было именно создание новой лекарственной формы на основе сангвиритрина и деминерализованной кости. В чем состоит новизна данного исследования Литвинова Ю.Ю не ясно;

- в критериях контроля качества кости нет абсолютно ничего нового, «разработанного» именно Ю.Ю. Литвиновым, как и нет ссылок на ученых, ранее формулировавших указанные положения (здоровье донора, небольшой посмертный период, возраст донора, отсутствие нагрева при механической обработке материала, отсутствие патологических изменений кости, отсутствие видимых разрушений и микротрещин, стерильность материала);

Достоверность результатов, аргументированность выводов диссертации.

- По мнению соискателя биомеханические характеристики образцов кости служат основными параметрами для контроля качества имплантатов. Прочностные и деформационные характеристики более значимы для нерезорбируемых или медленно резорбируемых имплантатов, а защищаемая работа, по сути, посвящена деминерализованной кости. Для ксеноимплантатов такого рода критически важными являются сохранность остеоиндуктивных и отсутствие антигенных свойств, что в данной работе было проигнорировано.

- Ни в диссертации, ни в патентах №№ 2526429 и 2630464 нет данных о том, что при стерилизации костных образцов озоновым и комбинированным методами сохраняются морфогенетические протеины кости, а этот тезис просто голословно утверждается.

- Максимальный срок проверки образцов на стерильность составлял 2 недели. Не ясно, на каком основании делается утверждение о том, что стерилизованные комбинированным способом препараты могут быть использованы в течение 5 лет. Ни в самой диссертации, ни в патенте №2630464 нет ни доказательств, ни ссылок на это у других авторов.

- Самое главное, в работе нет абсолютно никаких доказательств того, что разработанная лекарственная форма будет оказывать положительный эффект при лечении хронического остеомиелита и других инфекционных заболеваний кости. При этом автор диссертации нигде не упоминает исследование (Черников В.Г., Терехов С.М., Крохина Т.Б., Шишкин С.С., Смирнова Т.Д., Аднорал Н.В., Ребров Л.Б., Денисов-Никольский Ю.И., Быков В.А. Комплексная биотест-система, использующая клетки с разными типами дифференцировки для быстрого определения цитотоксических и ростстимулирующих эффектов биологически активных веществ (БАВ) // Биомедицинские технологии: сб. научн. работ/Труды межведомственного научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий. - Москва, 2001. - Вып. 16. - С.79 - 84), которое показало, что сангвиритрин обладает сильным цитотоксическим действием, особенно, на клетки фибробластического ряда. Там же в клеточных культурах были установлены LD50 (гибнет 50% клеток) и LD100 (гибнет 100% клеток), которые соответствуют концентрациям сангвиритрина 0,5-1 мкг/ мл и 4 мкг/ мл. Для клеток костного мозга LD50 выше и составляет около 15 мкг/ мл (Быков В.А., Денисов-Никольский Ю.И., Ребров Л.Б., Мороз Б.Б., Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Реброва Г.А. Исследование цитотоксического действия сангвиритрина *in vitro* применением модели длительных культур костного мозга // Биомедицинские технологии: сб. научн. работ/Труды межведомственного научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий. - Москва, 1998. - Вып. 10. - С.62 - 65).

Превышение этих концентраций в прилежащих к имплантату зонах неизбежно будет приводить к гибели клеток, торможению процесса регенерации и выраженной резорбции кости реципиента. При предлагаемом в данной диссертации и в патенте № 2679121 способе изготовления имплантатов с антимикробным действием выход сангвиритрина дает значительно более высокие его концентрации, чем LD50 и LD100 для фибробластов. В ВИЛАР еще более 20 лет назад начинали разрабатывать предлагаемую Литвиновым Ю.Ю. лекарственную форму, но затем такие разработки были свернуты, так как в экспериментах на крысах и кроликах не удалось выявить сколько-нибудь заметное положительное действие пропитанного сангвиритрином деминерализованного костного матрикса на процессы регенерации кости. Наоборот, во многих случаях наблюдали выраженную резорбцию и обширную потерю кости, в прилежащих к имплантату участках. Таким образом, «оценка безопасности костных имплантатов» в данной работе не имеет под собой никаких оснований.

Важность для теории и практики научных исследований.

На основании сказанного выше, полагаю, что в указанном в диссертации и патенте №2679121 виде имплантационный препарат на основе деминерализованной кости с сангвиритрином не может быть использован в хирургической практике. Правильнее было бы сначала подобрать безопасные концентрации сангвиритрина в имплантатах на клеточных культурах, убедиться в его лечебном действии на модели, например, хронического остеомиелита у животных, а уж потом тратить силы и средства на создание лекарственной формы, которая, неизвестно, будет ли работать и будет ли востребована.

Замечания.

1. Обзор литературы, не соответствует цели исследования, а анализ представленных в нем данных не приводит к логичной постановке указанных задач работы. При этом отсутствуют даже основополагающие сведения о методах снижения антигенных свойств деминерализованного костного матрикса и способах сохранения его остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойств, что, собственно, и является целью данной диссертационной работы. Приведено много не относящихся к теме данных.

2. В материалах и методах только демонстрация приборов, без обоснования необходимости их использования. Нет и описания способов пробоподготовки для исследований (например, элементного анализа), хотя это имеет прямое

отношение к трактовке полученных результатов. Не ясна цель применения в работе 3-D метода, поскольку его разрешение (X7) явно недостаточно, для обнаружения

микротрещин и микродефектов, которых и так должно быть немало в образцах после разрушения в прочностных тестах.

3. В работе соискателя никак не оценено, что бедренные кости 1,5-2-летних быков имеют существенные отличия от костей взрослого человека в строении и пространственной организации остеонных систем, хотя там есть много слов об «учете направления остеонных структур кости».

4. Выводы. Указанные в выводах 1-3 «разработанные методологии» и «усовершенствованные технологии» без ссылок взяты из работ других исследователей. Для верификации вывода 2 необходимо подтверждение тезиса о сохранении остеоиндуктивных свойств костным матриксом после стерилизации озono-кислородной смесью. Вывод 3 по сути идентичен выводу 1 и не несет в себе никакой новизны. Вывод 4 о методиках пропитки костного матрикса сангвиритрином и его высвобождения в физраствор не является разработкой автора, а всего-навсего представляют собой частный случай повторения исследований Г.А. Ребровой с соавт. Вывод 5 является суммой выводов 1 -4, большинство представленных в нем рекомендаций является не более, чем умозаключениями или фактами из литературы, и разработок автора диссертации здесь нет. Вывод 6 практически полностью дублирует вывод 4, можно их объединить. Однако, и здесь остается вопрос о использовании наработок других исследователей без ссылок и упоминаний.

Имеются более многочисленные, достаточно важные и принципиальные замечания по тексту самой диссертации, однако, в отзыве на автореферат они приведены быть не могут. И диссертацию, и автореферат необходимо тщательно выверить, так как обнаруживается значительное количество ошибок, неточностей, неудачных выражений и опечаток.

Результаты диссертации Литвинова Ю.Ю. представлены в 25 публикациях, включая издания, рекомендованные ВАК РФ, а также в 3 патентах.

Заключение.

Вышеизложенное позволяет констатировать, что, судя по автореферату диссертация ЛИТВИНОВА Юрия Юрьевича **БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ И ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ**, представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии), **НЕ ЯВЛЯЕТСЯ** самостоятельным научным трудом, в котором разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новый вклад в биотехнологию (в т.ч. бионанотехнологию). В представленном виде работа **НЕ СООТВЕТСТВУЕТ**

«Положению о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Российской Федерации.

В соответствии со статьей 80 Основ законодательства Российской Федерации о нотариате, свидетельствуя подлинность подписи, нотариус удостоверяет, что подпись на документе сделана определенным лицом, но не удостоверяет фактов, изложенных в документе.

Город Москва, шестого июня две тысячи девятнадцатого года.

доктор медицинских наук, профессор

Докторов Александр Альбертович

**Российская Федерация
Город Москва**

Шестого июня две тысячи девятнадцатого года

Я, Зуева Виктория Евгеньевна, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи Докторов Александра Альбертовича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/203-н/77-2019-2-615.

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 1000 руб. 00 коп.



В.Е.Зуева



Всего пронумеровано,
прошнуровано и
скреплено печатью
6. ЛИСТОВ
Нотариус

A handwritten signature in blue ink is written below the notary stamp. The signature is stylized and appears to be "И. И. С.".