

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Лепилина Александра Викторовича на диссертацию Бороздкина Леонида Леонидовича на тему: «Разработка и применение модифицированной биорезорбируемой мембраны на полимерной основе, обработанной гидрозолю наночастиц серебра», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.7. Стоматология

Актуальность темы научного исследования

Реабилитация пациентов с частичным и полным отсутствием зубов с применением дентальных имплантатов произвела в определенном смысле революцию в области стоматологии и позволила значительно повысить качество жизни пациентов. Тем не менее, недостаточность объема костной ткани в области ранее удаленных зубов остается серьезной проблемой для остеоинтеграции дентальных имплантатов. Для достижения стабильного и долгосрочного результата лечения с применением дентальных имплантатов в местах их инсталляции должен существовать достаточный объем костной ткани. Различные стратегии лечения атрофии альвеолярной кости, такие как компрессионно-дистракционный остеогенез, различные методы костной пластики с применением костных блоков, направленная костная регенерация, были разработаны для восстановления утраченной кости, чтобы обеспечить остеоинтеграцию на всем протяжении дентального имплантата и поддерживать его во время функциональной нагрузки.

Одним из наиболее часто применяемых методов реконструкции альвеолярной кости и восполнения дефицита костной ткани вокруг имплантата считается направленная костная регенерация с использованием барьерных мембран, которые позволяют исключить врастание в область проведенной пластики быстро пролиферирующего эпителия и соединительной ткани, тем самым способствуя росту остеогенных клеток.

Мембрана, используемая для направленной костной регенерации, является немаловажным компонентом лечения. Желательными характеристиками мембраны, которая используется для восстановления утраченного объема костной ткани, являются биосовместимость, способность предотвращать врастание мягких тканей,

интеграция с тканями пациента, клиническая управляемость, адекватные механические и физические свойства. Для процедур направленной костной регенерации в различное время применяли мембраны из политетрафторэтилена, титана, кобальт-хромового сплава, сульфата кальция, полигликолевой кислоты, полимолочной кислоты, хитозана, альгината, различных видов коллагена и многих других материалов. Нерезорбируемые мембраны, в основном из ПТФЭ, продемонстрировали высокие показатели биосовместимости, а также способность поддерживать воссозданную из материала форму альвеолярного гребня, однако их большими недостатками являются необходимость проведения повторного хирургического вмешательства для удаления мембраны и высокая частота экспозиции мембраны, что существенно может повлиять на процесс замещения костного материала на собственную ткань пациента и привести к бактериальной контаминации костного материала.

Широкое распространение в различных клинических ситуациях получили и резорбируемые мембраны: основными их преимуществами являются удобство в клиническом применении, регулируемая биодеградация. Отсутствие у них жесткости и стабильности в ряде клинических случаев рассматриваются как серьезный недостаток и противопоказание к применению. Дегградация некоторых видов мембран может сопровождаться развитием выраженной воспалительной реакции, приводящей к резорбции регенерированной костной ткани, а также скорость дегградации может не соответствовать скорости оптимальной регенерации костной ткани. Такое свойство резорбируемых мембран, как пористость, позволяет разработчикам вносить в состав мембран различные биологически активные молекулы и вещества, направленные на стимуляцию остеогенных процессов, придание мембране антибактериальных и противовоспалительных свойств.

Совершенствование имеющихся и разработка новых отечественных материалов, используемых для замещения костных дефектов при дефиците альвеолярной кости челюстей, значительно может повысить эффективность лечения хирургических стоматологических пациентов, что также найдет свое отражение в

таких показателях как сроки реабилитации, качество жизни пациента и стоимость лечения.

Все вышесказанное говорит об актуальности проведенного Бороздкиным Л.Л. диссертационного исследования на тему «Разработка и применение модифицированной биорезорбируемой мембраны на полимерной основе, обработанной гидрозолю наночастиц серебра».

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

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертационном исследовании Бороздкина Леонида Леонидовича, не вызывают сомнений. Представленный автором дизайн исследования, продуманность и обоснованность всех его этапов соответствуют высоким научным стандартам, предъявляемым к современным диссертационным работам. Автором была сформулирована цель, для решения которой логично и разносторонне построены задачи, последовательно определяющие все этапы исследования. Научные положения, представленные в диссертации, сформулированы исходя из полученных в ходе исследования данных и представляют собой актуальные результаты наблюдений. Они написано достаточно четко, резюмируя основные этапы выполненной работы.

Достоверность сформулированных выводов подкрепляется современными методами экспериментальных исследований мембран в условиях *in vitro*, а именно, исследование токсичности гидрозоля наночастиц серебра, исследование цитотоксичности мембран, проведения экспериментального исследования мембран на моделях *in vivo* и последующих гистологического, гистохимического и иммуногистохимического исследований с применением компьютерной морфометрии, использованных диссертантом. Представленные результаты статистического анализа подтверждают высокий научный уровень проведенного диссертационного исследования и достоверность полученных результатов.

Новизна исследования, полученных результатов

В диссертационном исследовании Бороздкина Л.Л. разработана методика нанесения наночастиц серебра на биорезорбируемую барьерную мембрану из полилактида, что придает ей бактерицидный и бактериостатический эффект. Автором впервые определена оптимальная концентрация гидрозоля наночастиц серебра (0,2 мг/мл), не оказывающая токсический эффект, для изготовления мембраны из полилактида с антибактериальными свойствами, используемой в направленной регенерации костных тканей.

Особого внимания заслуживают результаты лабораторных исследований: доказана биосовместимость, цитокондуктивность на культурах клеток *in vitro* и на животных моделях *in vivo*. Отсутствие токсического эффекта мембраны PLA-Ag и ее компонентов доказана в тесте на выживаемость рачков *Daphnia magna* Straus; на культуре клеток нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных лейкоцитов, по результатам биохимических и гематологических показателей сыворотки периферической крови белых крыс после подкожной имплантации мембраны.

Новым результатом проведенной работы является изучение антибактериальной активности мембраны, что было подтверждено в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с инфекционными осложнениями после установки стоматологических имплантатов. Также автором были отмечены снижение выраженности воспалительной реакции в области операционной раны на животных моделях *in vivo*, что является важным аспектом течения послеоперационного периода после проведения костнопластических операций.

Новыми являются и результаты оценки остеогенеза при применении остеопластической мембраны из полилактида с нанесенными на нее наночастицами серебра в технике направленной костной регенерации: мембрана PLA-FAg целесообразно использовать при костнопластических операциях в силу выраженного антимикробного и противовоспалительного действия, способствующих быстрому затуханию воспалительного процесса в очаге

повреждения и, как следствие, ускорению последующей активации процессов регенерации костной ткани.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором

Научная и практическая значимость результатов диссертационного исследования Бороздкина Леонида Леонидовича также не вызывают сомнений. Подробное описание методов изготовления мембраны из полилактида, методики нанесения наночастиц серебра, разносторонняя оценка физико-химических и биологических свойств изучаемой мембраны позволили провести тщательное сопоставление полученных данных с результатами гистологического, гистохимического и иммуногистохимического исследований, проведенных на биоптатах из животных моделей, а также оценить регенеративные свойства мембраны. Все это не только демонстрирует эффективность предложенного автором метода модернизации резорбируемых мембран из полилактида наночастицами серебра, но и является хорошим научно обоснованным материалом для проведения клинико-лабораторных исследований и внедрения метода в клиническую практику.

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в учебном процессе при изучении дисциплин «Хирургическая стоматология», «Челюстно-лицевая хирургия».

Оценка содержания и завершенность работы

Структура диссертации традиционна и состоит из введения, 6 глав: обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав результатов экспериментальных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Все разделы диссертации соответствуют требованиям, принятым для научно-квалификационных работ. Диссертация содержит 139 машинописных страниц, иллюстрирована 28 рисунками и 10 таблицами. Список литературы внушительный – 279 источников, из них 120 отечественных и 159 зарубежных авторов.

Во *введении* автор грамотным литературным языком в логической последовательности показывает актуальность темы, четко и конкретно определяет

цель и задачи исследования, отражает научную новизну и практическую значимость работы.

В *первой главе* диссертации приведен аналитический обзор литературы, который имеет единую концепцию и план написания, с вынесением нерешенных вопросов и обоснованием актуальности проводимого исследования.

Вторая глава посвящена описанию общей структуры и методов, использованных при проведении экспериментального исследования, мембраны группы исследования и группы сравнения. В ней отражены дизайн исследования, обоснован выбор используемых мембран, описаны методики и сроки проведения всех этапов исследования, в том числе проведение экспериментальных исследований мембран в условиях *in vitro* и на моделях *in vivo*, а также статистической обработки полученных данных. Глава содержательна и достаточна по объему.

Третья глава посвящена описанию разработки методики изготовления раствора гидрозоля со стабилизированными наночастицами серебра, изучению токсичности гидрозоля наночастиц серебра, определению методики нанесения наночастиц серебра на мембрану из полилактида. Автором была разработана методика нанесения гидрозоля наночастиц серебра на мембрану из полилактида, основанная на погружении мембраны в раствор гидрозоля «НанАргол» с концентрацией наночастиц серебра 0,2 мг/мл до состояния полного впитывания и установлена сохранность свойств мембраны в физиологическом 0,9 мас. % растворе NaCl, имитирующем свойства сыворотки крови более 14 суток

В *четвертой главе* представлены результаты экспериментального исследования биосовместимости и антимикробной активности исследуемой резорбируемой мембраны. Исследование цитотоксичности выполняли на культурах клеток нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных лейкоцитов, способных интернализировать наноматериалы и принимать активное участие в реакциях приживления и/или отторжения имплантатов: жизнеспособность нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных лейкоцитов для мембран PLA и PLA-Ag достигала 97–98% и статистически не отличалась от показателя в контрольных культурах

клеток (98–99%), что подтвердило отсутствие цитотоксичности разработанной мембраны. Подсчет индекса выживаемости лейкоцитов после контакта с образцами исследуемых мембран, проведенный с помощью камеры Горяева, подтвердил отсутствие негативного влияния остеопластического материала мембраны и наночастиц серебра на лейкоциты крови. Исследование цитокондуктивности и биосовместимости мембраны проводили на культуре фибробластов эмбриона человека. В результате исследования было установлено, что клетки соединительной ткани колонизировались на поверхности и внутри мембраны «полилактид-фиброин» с нанесенными наночастицами серебра, и была доказана возможность роста и развития клеток соединительной ткани на поверхности и остеопластической мембраны, модифицированной наночастицами серебра. Была продемонстрирована высокая антибактериальная активность в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* и удовлетворительную в отношении штаммов *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с инфекционными осложнениями после установки стоматологических имплантатов. Исследования токсичности *in vivo* были проведены на животной модели, позволили оценить безопасность мембраны и возможности ее использования в клинической практике: имплантация остеопластической мембраны в подкожный карман белым крысам в течение 21 суток не выявила достоверных изменений биохимических и гематологических показателей периферической крови сыворотки крови животных; коэффициенты масс внутренних органов животных и соотношение массы иммунокомпетентных органов (тимус, селезёнка) не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей у животных в контроле.

Пятая глава демонстрирует результаты завершающего этапа экспериментального исследования – изучение процесса регенерации костной ткани на животной модели. По результатам выполненного гистологического исследования было установлено, что имплантированная мембрана PLA-Ag обеспечивала благоприятные условия для нормальной регенерации плоских костей черепа: на 42 сутки дефект полностью закрывался незрелой костной тканью. Полученные результаты иммуногистохимического исследования свидетельствуют о достаточно

высокой противомикробной активности покрытия полилактидной мембраны наночастицами серебра при использовании в качестве их источника коллоидного раствора наночастиц: уменьшение доли CD3+ и CD30+ клеток демонстрирует снижение активности воспалительного ответа на инородное тело, в особенности со стороны активированных лимфоцитов, а также свидетельствует о подавлении воспалительной реакции на всех этапах ее развития.

Глава «Заключение» содержит подтверждение актуальности исследования, обоснование цели и задач, подробный анализ полученных результатов на основе принципов доказательной медицины, сопоставление их с ранее полученными данными другими авторами и включает в себя элементы дискуссии.

Выводы и практические рекомендации логичны, вытекают из проделанной работы, полностью соответствуют поставленным задачам.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Бороздкина Леонида Леонидовича «Разработка и применение модифицированной биорезорбируемой мембраны на полимерной основе, обработанной гидрозолю наночастиц серебра», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.7. Стоматология, выполненная под руководством члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Иванова Сергея Юрьевича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой дано новое решение научной задачи – совершенствование методов восстановления параметров альвеолярной кости челюстей, что имеет важное научно-практическое значение для стоматологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная диссертация полностью соответствует п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р, предъявляемым к

кандидатским диссертациям, а ее автор Бороздкин Леонид Леонидович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.7. Стоматология.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой хирургической стоматологии и
челюстно-лицевой хирургии

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского

Минздрава России

3.1.7. Стоматология

Викторович

Лепилин Александр

Подпись Лепилина Александра Викторовича заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского

Минздрава России

доктор медицинских наук, доцент

Евгеньевна



Липатова Татьяна

30.01.2023г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России)

Адрес: 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Тел.: +7 (8452) 273370; 7 (8452) 493303

Электронная почта: meduniv@sgmu.ru