

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ГБУ «Уфимский
научно-исследовательский институт
глазных болезней Академии наук
Республики Башкортостан»,
доктор медицинских наук, профессор
Бикбов М.М.

« 23 » июля 2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы

Перевозчикова Петра Арсентьевича

«Медико-технологические и методологические аспекты изучения
регенераторных процессов в склере при имплантации нанодисперсной
плаценты в эксперименте», представленной на соискание ученой степени
доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.07 – глазные болезни и
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

1. Актуальность проблемы исследования

Совершенствование технологий, направленных на лечение дегенеративно-дистрофических заболеваний фиброзной оболочки глазного яблока, имеет большое научное и медицинское значение ввиду высокой частоты данных нарушений. Эктазии и стафиломы склеры являются частыми причинами инвалидности по зрению среди лиц трудоспособного возраста в РФ. Рост числа больных с миопией и ее прогрессированием с изменением структуры склеры обуславливает социальную значимость проблемы и требует поиска более эффективных методов лечения. Применяемые в настоящее время экстрасклеральные методики укрепления фиброзной оболочки глаза с использованием как макроскопических биологических аллопластических материалов, так и их крупнодисперсных аналогов, способствуют формированию соединительнотканного рубца только на поверхности склеры, без регенерации собственного вещества.

Разработки и применение нанодисперсных материалов в медицине и биохимии являются приоритетными в национальных программах разных стран, в том числе в России. В настоящее время является актуальной проблемой создание нанодисперсных имплантатов из биологических материалов с ультрадисперсной структурой, имеющих размеры частиц меньше диаметра пор склеральной ткани, тем самым способных глубоко проникать в строму склеры и вызывать ее регенерацию с последующим ремоделированием структуры. Это может значительно расширить возможности комплексного лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний фиброзной оболочки глазного яблока.

Таким образом, все вышеуказанное является актуальным и перспективным вопросом в офтальмологии и регенеративной хирургии и явилось предметом данного исследования.

2. Связь с планом научных исследований

Диссертация Перевозчикова П.А. на тему «Медико-технологические и методологические аспекты изучения регенераторных процессов в склере при имплантации нанодисперсной плаценты в эксперименте» выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Ижевской государственной медицинской академии» Минздрава России, номер государственной регистрации: АААА-А17-117111420124-5.

Работа соответствует двум специальностям: 14.01.07 – глазные болезни и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

3. Научная новизна исследования и полученных результатов

Выполненные автором экспериментальные и клинические исследования привели к ряду конкретных заключений:

1. Впервые разработан способ получения нанодисперсной плаценты для дальнейшего применения в качестве индуктора процессов регенерации соединительной ткани глаза.

2. Впервые разработана технология имплантации нанодисперсной плаценты в эксперименте и создан биоимплантат на основе фрагмента пуповины, содержащий нанодисперсную плаценту, для экстрабульбарного введения с целью ускорения фибробластических процессов в лечении офтальмопатологии.

3. Впервые показано, что механоактивация лиофилизированной плаценты вследствие перехода в нанодисперсное состояние приобретает новые биофизические свойства: усиливает гидрофильность, проникающую способность в ткани реципиента, биодоступность и пролиферацию при минимальных объемах введения.

4. Впервые показано, что экстрабульбарное введение нанодисперсной плаценты в виде биоимплантата способствует проникновению её частиц в склеру глаза экспериментального животного, индуцируя процессы коллагеногенеза и ремоделирования.

5. Впервые методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) путем изучения механической жёсткости и степени разрешённости поперечной D-периодичности произведена оценка степени зрелости коллагенового волокна, как маркера регенераторной активности соединительной ткани.

4. Оценка структуры и содержания работы

Диссертация имеет классическую структуру, состоит из введения, обзора литературы, главы описывающей объект и методы исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, из которых 271 отечественных и 199 иностранных источника.

Во введении автор обсуждает общие вопросы, связанные с проблемой и актуальностью темы диссертации, формулирует цель работы и приводит основные научные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен литературный обзор представлений о механизмах репаративной регенерации, методик ее стимулирования, а также

работы по применению биоматериалов в регенерации тканей, в том числе применению нанотехнологий в стимуляции регенерации поврежденных тканей, раскрывается морфология склеры глаза, отмечаются нерешенные проблемы.

Во второй главе дается описание методов доэкспериментального и экспериментального этапов исследования, в т.ч. получения нанодисперсной плаценты. Указываются методы клинического наблюдения за экспериментальными животными, морфологического исследования результатов экстрабульбарного введения нанодисперсной плаценты.

В третьей главе подробно описывается методика приготовления нанодисперсной плаценты путем механоактивации в шаровой планетарной мельнице, рассматривается ее структура и биофизические свойства. Описывается технология изготовления биоимплантата и его введения в соединительнотканые структуры глаза лабораторного животного, результаты морфологического исследования зоны введения. Представлены результаты изучения степени репаративной активности тканей глазного яблока в зависимости от объемов введения нанодисперсной плаценты.

В четвертой главе приводятся результаты оценки влияния имплантации нанодисперсной плаценты на соединительнотканые структуры глазного яблока животного методами конфокальной микроскопии и спектроскопического флуоресцентного анализа. Впервые предложенным методом атомно-силовой микроскопии произведена оценка степени созревания коллагенового волокна как маркера репаративной активности соединительной ткани и доказано усиление коллагеногенеза под влиянием нанодисперсной плаценты в склере глаза кролика.

В пятой главе изложены результаты исследования репаративной активности тканей глазного яблока на крысах методом иммуногистохимического анализа, который достоверно подтвердил усиление пролиферативной активности как в соединительнотканых структурах собственного вещества конъюнктивы глазного яблока в зоне

введения нанодисперсной плаценты, так и в многослойном плоском неороговевающем эпителии над зоной имплантации.

В шестой главе представлены результаты изучения биомеханических свойств склеры в эксперименте. При этом отмечено положительное влияние введения нанодисперсной плаценты в соединительнотканые структуры глазного яблока животного на деформационно-прочностные показатели склеры, подлежащей зоны введения, повышение предела прочности и ее упругих характеристик.

В заключении автором обоснованы основные положения работы, выводы соответствуют поставленным задачам, представлены практические рекомендации.

5. Значимость полученных результатов для науки и практики

Диссертационное исследование Перевозчикова П.А. носит фундаментальную и прикладную направленность, представляя несомненный интерес для дальнейших теоретических исследований, внедрения в практику работы офтальмологических учреждений, а также использования в педагогическом процессе при подготовке офтальмологов, занимающихся проблемами регенеративной хирургии глаза.

Разработан новый вид имплантационного биологического материала, имеющего наноразмерную структуру, обладающего повышенной проницаемостью и биодоступностью для тканей глазного яблока реципиента, высокой степенью гидрофильности, способностью усиливать процессы пролиферации при минимальных объемах введения. При введении нанодисперсной плаценты экстрабульбарно происходит проникновение частиц нанодисперсной плаценты в глубокие слои склеры глаза опытного животного, в результате чего запускаются процессы коллагенообразования и ремоделирования. Это исследование создает перспективу для разработки новых медицинских изделий и более эффективных микроинвазивных методов лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний фиброзной оболочки глазного яблока.

Все научные положения обоснованы проведением исследований на достаточном количестве экспериментального материала. Полученные данные обработаны с помощью методов математической статистики. Диссертационная работа выполнена с использованием стандартных офтальмологических методов обследования и специальных методов исследования: атомно-силовая микроскопия, конфокальная микроскопия и стереоскопический флуоресцентный анализ. Все это позволило в комплексе оценить структуру полученной нанодисперсной плаценты, контролировать ее размерность при введении в соединительнотканые структуры глазного яблока, определить глубину проникновения частиц биологического материала в ткани реципиента.

Автором самостоятельно выполнены экспериментальные исследования и их интерпретация, проанализированы полученные результаты, проведена статистическая обработка материала.

Сформулированные в диссертации выводы обоснованы результатами проведенного исследования.

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

7. Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы в практике

1. Для получения нанодисперсной плаценты рекомендуется использовать разработанный новый способ получения биологического материала с ультрадисперсной структурой, который заключается в применении механоактивации с использованием шаровой планетарной мельницы с подведённой удельной энергией менее 15 кДж/г в течение 60 минут при температуре не более 60⁰ С.

2. Для стимулирования процессов коллагеногенеза в склере глаз экспериментальных животных следует применять биоимплантат с нанодисперсной плацентой, вводимый либо экстрабульбарно, либо субконъюнктивально в виде суспензии в дозе не более 5 мг.

3. Для подтверждения процессов репарации целесообразно применять разработанную методику оценки степени зрелости коллагенового волокна, как маркера репаративной активности соединительной ткани, с использованием атомно-силовой микроскопии и изучаемых гистологических парафиновых срезов путем учёта механической жёсткости и степени организации D-периодичности коллагенового волокна при помощи компьютерной программы Image Analysis 3 (НТ-МДТ, Россия).

4. Порошок нанодисперсной плаценты в процессе механоактивации приобретает новые биофизические свойства: повышенную гидрофильность, проницаемость и биодоступность, и может быть использован для изготовления других медицинских изделий.

8. Апробация работы и публикации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на различных российских и международных конференциях и конгрессах, полностью отражены в печати: по теме диссертации опубликовано 49 печатных работ, в том числе 24 - в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией РФ. Издана 1 монография. Новизна разработанных предложений подтверждена тремя патентами РФ на изобретения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Перевозчикова Петра Арсентьевича на тему «Медико-технологические и методологические аспекты изучения регенераторных процессов в склере при имплантации нанодисперсной плаценты в эксперименте» является завершённым научно-квалификационным трудом, выполненном на высоком научном и методологическом уровне. В работе содержится решение важной проблемы офтальмологии, а именно, разработка и создание нанодисперсных имплантационных биологических материалов с новыми биофизическими

свойствами, способствующими стимуляции процессов регенерации и ремоделирования собственного вещества склеры, для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний фиброзной оболочки глаза.

По своей актуальности и научно-практической значимости работа Перевозчикова П.А. соответствует требованиям п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальностям: 14.01.07 – глазные болезни и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на заседании Ученого совета ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан».

Протокол № 4 от «21» июня 2019 г.

Зам. директора по научно-производственной работе
ГБУ «Уф НИИ ГБ АН РБ»,
доктор биологических наук



Шевчук Наталья Евгеньевна

Подпись д.б.н. Шевчук Н.Е. заверяю

Начальник отдела кадров
ГБУ «Уф НИИГБ АН РБ»



Г.Н. Кутлушина

Государственное бюджетное учреждение «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»

Адрес: 450008, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Пушкина, 90.

тел./факс (347) 272-37-75, 272-08-52,

электронная почта: eye@anrb.ru

Сайт в интернете: <http://www.ufaeyeinstitute.ru>

E-mail: ufanauka@mail.ru