

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Волокитиной Елены Александровны на диссертационную работу Копылова Вадима Анатольевича: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов *BACILLUS SUBTILIS* 804, содержащих фактор роста фибробластов», представленную к защите на заседании диссертационного совета Д 208.006.06 при ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.15 - «травматология и ортопедия»

Актуальность избранной темы диссертационного исследования для медицинской науки и практики. Диссертационное исследование Копылова Вадима Анатольевича: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов *BACILLUS SUBTILIS* 804, содержащих фактор роста фибробластов», посвящено одному из сложных разделов травматологии и ортопедии - клинико-экспериментальному обоснованию и оптимизации лечения больных с открытыми переломами костей конечностей с использованием метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов.

Актуальность проблемы лечения больных с открытыми переломами конечностей не вызывает сомнений: за последние годы значительно возросло количество случаев тяжелой открытой травмы, характеризующейся большой частотой гнойно-некротических осложнений, длительностью лечения, инвалидизацией населения, обусловленной формированием ложных суставов и посттравматических дефектов тканей (А. М. Мироманов, 2009; В.Г. Климовицкий, 2013). Местные инфекционные осложнения, по данным С.Е. Attinger (2013), развиваются от 26,1% до 54,7%, тяжелые контрактуры суставов - до 45,4% случаев, а также выход на первичную инвалидность достигает 74,5%. Одной из причин неблагоприятных исходов открытых переломов является нарушение механизмов репаративного гистогенеза, возникающее вследствие не только высокоэнергетического характера травмы мягких и костных тканей, но и наличия у пострадавших сопутствующей соматической патологии, оказывающей влияние на нормальные механизмы регенерации тканей.

В настоящее время существуют несколько способов воздействия на репаративную регенерацию (импульсное инфракрасное лазерное излучение, электромагнитное излучение крайне высоких частот, введение остеоиндуктивных веществ в область перелома), осуществление которых на практике является технически сложным. Определена ключевая роль в процессе репаративной регенерации костной ткани аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения, доказано в экспериментах *in vitro* их стимулирующее влияние на остеогенную пролиферацию (W.Wu, 2015; Q.I. Zhou, 2015). Для регенерации тканей при переломах играют роль различные факторы роста (тромбоцитарный, эпидермальный, фибробластический, инсулиноподобный), наиболее изученным из них является группа факторов роста фибробластов (ФРФ).

Однако, данные о клиническом применении факторов роста фибробластов в современной мировой литературе немногочисленны. Изучение влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих новый фактор роста фибробластов, на процессы регенерации костей и заживления ран с целью совершенствования методов лечения открытых переломов стало побудительным мотивом для выполнения данной работы. Цель исследования Копылова Вадима Анатольевича - улучшить результаты лечения открытых переломов с помощью метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов.

Для достижения цели исследования автор поставил пять задач, таких как выявление основных проблем при лечении открытых переломов длинных трубчатых костей; определение влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста

фибробластов, на регенерацию кости при лечении открытого перелома бедра в эксперименте; оценка эффективности использования метаболитов *Bacillus subtilis* 804 при лечении ран с дефектом кожи в эксперименте; определение эффективной дозировки метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для лечения раневых дефектов и доклинические исследования безопасности метаболитов *Bacillus subtilis* 804 в эксперименте на животных.

На защиту автор выносит три положения: первое - применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, при лечении открытых переломов в эксперименте оказывает стимулирующее влияние на репаративный остеогенез и улучшает консолидацию переломов. Второе - местное однократное применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, улучшает результаты кожной пластики при лечении ран с дефектом мягких тканей; метаболиты *Bacillus subtilis* 804 стимулируют ревазуляризацию, клеточную пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов кожи и восстанавливают органотипическое строение кожного покрова. Третье - метаболиты *Bacillus subtilis* 804, содержащие фактор роста фибробластов, не обладают острой и хронической токсичностью и не оказывают анафилактикогенного и аллергизирующего действия в экспериментах на животных.

**Степень достоверности, новизны результатов исследования и практическая значимость полученных результатов.** Диссертация выполнена как клинико-экспериментальное исследование и основана на анализе результатов лечения 291 пациента с открытыми переломами конечностей, которые были пролечены в городской клинической больнице №4 г. Оренбурга с 2003 по 2013 годы. Согласно классификации R. Gustilo и J. Anderson более половины пострадавших были с открытыми переломами, сопровождающимися повреждением мягких тканей I (86 - 29,6%) и II (103 - 35,4%) типа. У 73 пострадавших (25,1%) были переломы с IIIA типом повреждения мягких тканей, у 22 человек (7,6%) – с IIIB, и 7 пациентов (2,4%) – IIIC типом. Все анализируемые случаи соответствовали критериям включения в исследование.

По основным факторам, влияющим на результаты и исход лечения, пациенты в исследуемой группе статистически значимо не отличались, выборка была репрезентативна для получения достоверных данных и достаточна для обоснованных выводов.

Экспериментальный раздел диссертационного исследования состоял из двух частей, первая посвящена анализу материала по разработке новых способов стимулирующего воздействия на остеогенез при лечении открытого перелома бедра, вторая - созданию новых способов лечения ран с дефектом кожи с помощью воздействия метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов. В экспериментальном разделе автор использовал метаболиты штамма *Bacillus subtilis* 804 в виде стандартизированного препарата под названием «Винфар», изготовленные в ООО «Бакорен», стерильно упакованные.

Для изучения стимулирующего воздействия на остеогенез эксперимент выполнен на 112 белых крысах-самцах линии «Wistar», которым после моделирования открытого перелома в средней трети бедра выполняли интрамедуллярный остеосинтез спицей. Основной группе животных (48) дважды вводили в область перелома по 0,2 мл метаболитов *Bacillus subtilis* 804 (в виде препарата «Винфар») - непосредственно после наложения швов и через 24 часа. Крысы контрольной группы получали раствор натрия хлорида 0,9% в том же количестве. На 3, 7, 14, 21, 28, 44 и 61 сутки у 8 крыс каждой группы забирались ткани области перелома для морфологических исследований.

Для изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804 на репаративный гистогенез при лечении ран с дефектом мягких тканей эксперимент выполнен на 80 белых крысах-самцах линии «Wistar», которым наносили глубокие скальпированные раны в области спины с дефектом мягких тканей размером  $2,25 \pm 0,05$  см<sup>2</sup>. После созревания грануляционной ткани на 10 сутки выполняли кожную пластику расщеплёнными свободными аутотрансплантатами. Из них 60 крысам при проведении кожной пластики непосредственно перед укладкой трансплантата рану орошали 0,1 мл препарата

«Винфар», 20 животным контрольной группы рану орошали 1 мл физиологического раствора. На 7, 10 и 20 сутки забирались ткани области ран для морфологических и иммуногистохимических исследований.

Острую и хроническую токсичность препарата «Винфар» определяли на взрослых крысах и мышках, изучение анафилактического и аллергизирующего действия проводили на морских свинках. Дизайн экспериментальной части исследования наглядно представлен в виде таблиц.

В исследовании применен традиционный системный научный подход. Для решения поставленных в работе задач автором использованы клинические, рентгенологические, биохимические, обзорные гистологические, гистохимические, иммуноцитохимические, морфометрические и статистические методы исследования, которые позволили объективно оценить полученные результаты, обосновать формулировку выводов и практических рекомендаций. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы доказаны положительными результатами клинического и экспериментального исследований.

**Новизна исследования и полученных результатов.** Впервые представлен комплексный подход к проблеме изучения стимулирующего влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез. Разработана методика лечения открытых переломов с использованием метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для улучшения регенерации костной ткани. Автор доказал, что местное применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804 улучшает результаты кожной пластики при лечении скальпированных ран.

Впервые определена эффективная дозировка метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для использования при кожной пластике, установлена доклиническая безопасность метаболитов *Bacillus subtilis* 804. Новизна исследования подтверждена патентом РФ №2431203 «Способ аутодермопластики в эксперименте» и положительным решением о выдаче патента РФ на изобретение «Средство для стимуляции репаративного остеогенеза», заявка 2015124295/15 (037922) от 22/06/2015/

**Значимость результатов для науки и медицинской практики и внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования В.А. Копылова имеют не только научную, но практическую значимость. Проведенный клинический анализ доказал актуальность и необходимость разработки методов воздействия на репаративный гистогенез при открытых переломах костей конечностей. В результате эксперимента завершен необходимый этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов. При изучении доклинической безопасности автором установлено, что метаболиты *Bacillus subtilis* 804 не обладают острой и хронической токсичностью и не оказывают анафилактического и аллергизирующего действия в экспериментах на животных. Автором выявлена и доказана высокая эффективность метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, при лечении открытых переломов и скальпированных ран. Результаты проведенного диссертационного исследования позволили вплотную подойти к проведению клинических испытаний нового лекарственного препарата, перспективного для лечения осложненной травмы.

Внедрение в клиническую практику нового препарата, содержащего метаболиты штамма *Bacillus subtilis* 804, для лечения открытых переломов и скальпированных ран позволит сократить количество неудач и осложнений.

**Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертации.** Диссертационная работа В.А. Копылова представлена в виде рукописи, изложенной на 249 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора научной литературы, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Текст иллюстрирован рисунками и таблицами. Список литературы содержит 294 источника, в том числе 182 иностранных. Текст иллюстрирован 181 рисунками и 46 таблицами.

В первой главе, посвященной обзору литературы по исследуемой тематике, отражено современное состояние проблемы лечения открытых переломов и воздействия на репаративную регенерацию кости и мягких тканей при лечении открытых переломов. Анализ литературных источников показывает, что существующие способы и методы стимуляции репаративного гистогенеза при открытых переломах находится в стадии разработки. Одним из наиболее перспективных методов воздействия на репаративный гистогенез является использование фактора роста фибробластов, однако данных о его клиническом использовании недостаточно. Обоснована необходимость разработки нового метода локального стимулирующего воздействия на гистогенез костной ткани и кожи при лечении открытых переломов костей конечностей с целью совершенствования методов лечения открытых переломов

Во второй главе «Материалы и методы» приведены данные по клиническому материалу исследования с описанием критериев включения, дана характеристика используемого вещества, представлена структура эксперимента и приведены технологии выполнения экспериментов; подробно представлены использованные морфологические методы, структура и дизайн исследования, приведены методики статистической обработки материала.

В третьей главе представлен анализ результатов лечения пациентов с открытыми переломами длинных трубчатых костей, госпитализированных в ГБУЗ ГКБ №4 г. Оренбурга в 2003-2013 годы. Общая характеристика операций остеосинтеза представлена в виде таблицы. Зависимость выбора метода остеосинтеза от тяжести повреждений мягких тканей при открытом переломе (по классификации R. Gustilo и J. Anderson) наглядно представлена в виде столбиковой диаграммы; выявлена устойчивая зависимость повышения частоты остеосинтеза аппаратом внешней фиксации при тяжелых переломах. В результате анализа клинического материала автор доказал, что основными проблемами раннего послеоперационного периода при лечении открытых переломов являются инфекционные осложнения (некроз мягкотканых лоскутов и нагноение раны), в отдаленном периоде – нарушение консолидации переломов, частота которого оставалась высокой, вне зависимости от способа остеосинтеза. Таким образом, была подтверждена необходимость разработки современных методов стимуляции репаративного гистогенеза при тяжелой открытой травме.

В четвертой главе представлены результаты изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез в эксперименте. В результате продуманного и качественно выполненного эксперимента выявлено, что применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804 лимитирует выраженность воспалительного процесса, сокращая фазу ранних посттравматических изменений. В основной группе в более ранние сроки образуется костная мозоль, и преобладает остеобластический тип дивергентной дифференцировки в междифферонной гетероморфии за счет создания лучших условий оксигенации по сравнению с контролем. Автором впервые доказано стимулирующее влияние метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез.

В пятой главе диссертации представлены результаты изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный гистогенез при лечении ран с дефектом мягких тканей в эксперименте. Заживление «донорских» ран при использовании препарата, как нативного, так и разведённого в 10 раз, происходило достоверно быстрее, чем в остальных группах. Автором впервые доказано, что местное однократное орошение гранулирующей раны метаболитами *Bacillus subtilis* 804 при аутодермопластике улучшает приживание кожных лоскутов. Данный препарат стимулирует реваскуляризацию, клеточную пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов кожи и восстанавливает органотипическое строение кожного покрова, при этом происходит усиление синтеза зрелого коллагена I типа и снижается активность склеротических процессов, что снижает образование рубцов.

В шестой главе диссертации представлены результаты изучения доклинической безопасности метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов. При изучении хронической токсичности выявлено минимальное токсическое воздействие метаболитов *Bacillus subtilis* 804 на организм подопытных животных, которое клинического значения не имеет. При изучении острой токсичности метаболитов *Bacillus subtilis* 804 установлено, что при парентеральном введении в максимальной дозе метаболиты не вызывают летального и выраженного токсического эффекта. Также анафилактической активности и алергизирующего действия у препарата «Винфар» не выявлено.

Заключение отражает основные положения работы, ее новизну, практическую значимость. Проводится обсуждение полученных результатов, автор убедительно показывает преимущества использования метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, для стимуляции репаративного гистогенеза у лабораторных животных.

Следует особо подчеркнуть, что в результате выполнения данной диссертационной работы Вадиму Анатольевичу Копылову удалось завершить необходимый этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов, применение которого будет способствовать стимуляции репаративного гистогенеза. Результаты диссертационного исследования позволили вплотную подойти к проведению клинических испытаний нового лекарственного препарата, перспективного для лечения осложненной травмы.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из результатов исследования и соответствуют поставленной цели и задачам диссертационной работы.

Результаты исследований достаточно полно освещены в печати, по теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 15 статей - в рецензируемых научных журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» ВАК РФ, 2 статьи - в зарубежных научных изданиях, 3 публикации - в материалах международных конференций, получен патент РФ на изобретение №2431203 «Способ аутодермопластики в эксперименте» и положительное решение о выдаче патента РФ на изобретение «Средство для стимуляции репаративного остеогенеза», заявка 2015124295/15 (037922) от 22/06/2015. Опубликовано и рекомендовано к внедрению в клиническую практику информационно-методическое письмо «Современные аспекты лечения открытых переломов длинных трубчатых костей конечностей»

Основные положения работы доложены и обсуждены на Всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Диссертация хорошо оформлена в компьютерном исполнении. Несмотря на это, в работе имеется ряд недостатков. Отсутствует резюме к главам исследования. Имеются неточности в трактовке систематизации Gustilo R.B. – Andersen J.T. (1976), характеризующей повреждения мягких тканей при открытых переломах.

Выявленные недостатки в оформлении работы принципиального характера не имеют и не снижают общей ее ценности.

#### **Вопросы:**

1 Зависел ли выбор метода остеосинтеза от характера костного повреждения по классификации AO/ASIF: простой перелом A1-A3, клиновидный перелом B1-B3 и сложный – фрагментированный C1, сегментарный C2, многооскольчатый C3 переломы? Выявлена ли взаимосвязь типа костного повреждения с типом повреждения мягких тканей по систематизации Gustilo R.B. – Andersen J.T. (1976)?

2 Какая тактика была применена в клинике в случаях глубокого нагноения раны, и при каких методах остеосинтеза такое осложнение встречалось чаще?

3 Чем на Ваш взгляд обусловлены осложнения после двухэтапного остеосинтеза (3 из 8 случаев), применение которого наиболее показано у больных с открытыми переломами костей конечностей.

### Заключение

Диссертационное исследование Копылова Вадима Анатольевича на тему: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов BACILLUS SUBTILIS 804, содержащих фактор роста фибробластов», является самостоятельным законченным научным квалификационным исследованием, в котором содержится новое решение актуальной проблемы лечения открытых переломов костей конечностей с позиции стимуляции репаративного гистогенеза для профилактики осложнений послеоперационного периода. Результаты диссертационной работы можно квалифицировать как доклинический этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов, последующее применение которого в клинической практике позволит решить проблему воздействия на репаративный гистогенез при лечении осложненной травмы,

По актуальности, новизне, практической значимости, обоснованности положений и выводов диссертация исследование Копылова Вадима Анатольевича на тему: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов BACILLUS SUBTILIS 804, содержащих фактор роста фибробластов» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г. с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.15 - травматология и ортопедия.

### Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук  
(14.01.15 – травматология и ортопедия),  
профессор кафедры травматологии и ортопедии  
факультета повышения квалификации и  
профессиональной переподготовки Федерального  
государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования «Уральский  
государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации

Елена Александровна Волокитина

Подпись д.м.н Е.А. Волокитиной  
ЗАВЕРЯЮ:

Начальник управления кадров  
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России  
27 апреля 2017 года



В.Д. Петренко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России), 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. Тел.: (343) 371-34-90, факс 371-64-00, e-mail: usma@usma.ru

фибробластов, на регенерацию кости при лечении открытого перелома бедра в эксперименте; оценка эффективности использования метаболитов *Bacillus subtilis* 804 при лечении ран с дефектом кожи в эксперименте; определение эффективной дозировки метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для лечения раневых дефектов и доклинические исследования безопасности метаболитов *Bacillus subtilis* 804 в эксперименте на животных.

На защиту автор выносит три положения: первое - применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, при лечении открытых переломов в эксперименте оказывает стимулирующее влияние на репаративный остеогенез и улучшает консолидацию переломов. Второе - местное однократное применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, улучшает результаты кожной пластики при лечении ран с дефектом мягких тканей; метаболиты *Bacillus subtilis* 804 стимулируют реваскуляризацию, клеточную пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов кожи и восстанавливают органотипическое строение кожного покрова. Третье - метаболиты *Bacillus subtilis* 804, содержащие фактор роста фибробластов, не обладают острой и хронической токсичностью и не оказывают анафилактического и алергизирующего действия в экспериментах на животных.

**Степень достоверности, новизны результатов исследования и практическая значимость полученных результатов.** Диссертация выполнена как клинко-экспериментальное исследование и основана на анализе результатов лечения 291 пациента с открытыми переломами конечностей, которые были пролечены в городской клинической больнице №4 г. Оренбурга с 2003 по 2013 годы. Согласно классификации R. Gustilo и J. Anderson более половины пострадавших были с открытыми переломами, сопровождающимися повреждением мягких тканей I (86 - 29,6%) и II (103 - 35,4%) типа. У 73 пострадавших (25,1%) были переломы с IIIA типом повреждения мягких тканей, у 22 человек (7,6%) – с IIIB, и 7 пациентов (2,4%) – IIIC типом. Все анализируемые случаи соответствовали критериям включения в исследование.

По основным факторам, влияющим на результаты и исход лечения, пациенты в исследуемой группе статистически значимо не отличались, выборка была репрезентативна для получения достоверных данных и достаточна для обоснованных выводов.

Экспериментальный раздел диссертационного исследования состоял из двух частей, первая посвящена анализу материала по разработке новых способов стимулирующего воздействия на остеогенез при лечении открытого перелома бедра, вторая - созданию новых способов лечения ран с дефектом кожи с помощью воздействия метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов. В экспериментальном разделе автор использовал метаболиты штамма *Bacillus subtilis* 804 в виде стандартизированного препарата под названием «Винфар», изготовленные в ООО «Бакорен», стерильно упакованные.

Для изучения стимулирующего воздействия на остеогенез эксперимент выполнен на 112 белых крысах-самцах линии «Wistar», которым после моделирования открытого перелома в средней трети бедра выполняли интрамедуллярный остеосинтез спицей. Основной группе животных (48) дважды вводили в область перелома по 0,2 мл метаболитов *Bacillus subtilis* 804 (в виде препарата «Винфар») - непосредственно после наложения швов и через 24 часа. Крысы контрольной группы получали раствор натрия хлорида 0,9% в том же количестве. На 3, 7, 14, 21, 28, 44 и 61 сутки у 8 крыс каждой группы забирались ткани области перелома для морфологических исследований.

Для изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804 на репаративный гистогенез при лечении ран с дефектом мягких тканей эксперимент выполнен на 80 белых крысах-самцах линии «Wistar», которым наносили глубокие скальпированные раны в области спины с дефектом мягких тканей размером  $2,25 \pm 0,05$  см<sup>2</sup>. После созревания грануляционной ткани на 10 сутки выполняли кожную пластику расщепленными свободными ауто трансплантатами. Из них 60 крысам при проведении кожной пластики непосредственно перед укладкой трансплантата рану орошали 0,1 мл препарата

«Винфар», 20 животным контрольной группы рану орошали 1 мл физиологического раствора. На 7, 10 и 20 сутки забирались ткани области ран для морфологических и иммуногистохимических исследований.

Острую и хроническую токсичность препарата «Винфар» определяли на взрослых крысах и мышах, изучение анафилактического и аллергизирующего действия проводили на морских свинках. Дизайн экспериментальной части исследования наглядно представлен в виде таблиц.

В исследовании применен традиционный системный научный подход. Для решения поставленных в работе задач автором использованы клинические, рентгенологические, биохимические, обзорные гистологические, гистохимические, иммуноцитохимические, морфометрические и статистические методы исследования, которые позволили объективно оценить полученные результаты, обосновать формулировку выводов и практических рекомендаций. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы доказаны положительными результатами клинического и экспериментального исследований.

**Новизна исследования и полученных результатов.** Впервые представлен комплексный подход к проблеме изучения стимулирующего влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез. Разработана методика лечения открытых переломов с использованием метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для улучшения регенерации костной ткани. Автор доказал, что местное применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804 улучшает результаты кожной пластики при лечении скальпированных ран.

Впервые определена эффективная дозировка метаболитов *Bacillus subtilis* 804 для использования при кожной пластике, установлена доклиническая безопасность метаболитов *Bacillus subtilis* 804. Новизна исследования подтверждена патентом РФ №2431203 «Способ аутодермопластики в эксперименте» и положительным решением о выдаче патента РФ на изобретение «Средство для стимуляции репаративного остеогенеза», заявка 2015124295/15 (037922) от 22/06/2015/

**Значимость результатов для науки и медицинской практики и внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования В.А. Копылова имеют не только научную, но практическую значимость. Проведенный клинический анализ доказал актуальность и необходимость разработки методов воздействия на репаративный гистогенез при открытых переломах костей конечностей. В результате эксперимента завершен необходимый этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов. При изучении доклинической безопасности автором установлено, что метаболиты *Bacillus subtilis* 804 не обладают острой и хронической токсичностью и не оказывают анафилактического и аллергизирующего действия в экспериментах на животных. Автором выявлена и доказана высокая эффективность метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, при лечении открытых переломов и скальпированных ран. Результаты проведенного диссертационного исследования позволили вплотную подойти к проведению клинических испытаний нового лекарственного препарата, перспективного для лечения осложненной травмы.

Внедрение в клиническую практику нового препарата, содержащего метаболиты штамма *Bacillus subtilis* 804, для лечения открытых переломов и скальпированных ран позволит сократить количество неудач и осложнений.

**Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертации.** Диссертационная работа В.А. Копылова представлена в виде рукописи, изложенной на 249 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора научной литературы, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Текст иллюстрирован рисунками и таблицами. Список литературы содержит 294 источника, в том числе 182 иностранных. Текст иллюстрирован 181 рисунками и 46 таблицами.



В первой главе, посвященной обзору литературы по исследуемой тематике, отражено современное состояние проблемы лечения открытых переломов и воздействия на репаративную регенерацию кости и мягких тканей при лечении открытых переломов. Анализ литературных источников показывает, что существующие способы и методы стимуляции репаративного гистогенеза при открытых переломах находится в стадии разработки. Одним из наиболее перспективных методов воздействия на репаративный гистогенез является использование фактора роста фибробластов, однако данных о его клиническом использовании недостаточно. Обоснована необходимость разработки нового метода локального стимулирующего воздействия на гистогенез костной ткани и кожи при лечении открытых переломов костей конечностей с целью совершенствования методов лечения открытых переломов

Во второй главе «Материалы и методы» приведены данные по клиническому материалу исследования с описанием критериев включения, дана характеристика используемого вещества, представлена структура эксперимента и приведены технологии выполнения экспериментов; подробно представлены использованные морфологические методы, структура и дизайн исследования, приведены методики статистической обработки материала.

В третьей главе представлен анализ результатов лечения пациентов с открытыми переломами длинных трубчатых костей, госпитализированных в ГБУЗ ГКБ №4 г. Оренбурга в 2003-2013 годы. Общая характеристика операций остеосинтеза представлена в виде таблицы. Зависимость выбора метода остеосинтеза от тяжести повреждений мягких тканей при открытом переломе (по классификации R. Gustilo и J. Anderson) наглядно представлена в виде столбиковой диаграммы; выявлена устойчивая зависимость повышения частоты остеосинтеза аппаратом внешней фиксации при тяжелых переломах. В результате анализа клинического материала автор доказал, что основными проблемами раннего послеоперационного периода при лечении открытых переломов являются инфекционные осложнения (некроз мягкотканых лоскутов и нагноение раны), в отдаленном периоде – нарушение консолидации переломов, частота которого оставалась высокой, вне зависимости от способа остеосинтеза. Таким образом, была подтверждена необходимость разработки современных методов стимуляции репаративного гистогенеза при тяжелой открытой травме.

В четвертой главе представлены результаты изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез в эксперименте. В результате продуманного и качественно выполненного эксперимента выявлено, что применение метаболитов *Bacillus subtilis* 804 лимитирует выраженность воспалительного процесса, сокращая фазу ранних посттравматических изменений. В основной группе в более ранние сроки образуется костная мозоль, и преобладает остеобластический тип дивергентной дифференцировки в междифферонной гетероморфии за счет создания лучших условий оксигенации по сравнению с контролем. Автором впервые доказано стимулирующее влияние метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез.

В пятой главе диссертации представлены результаты изучения влияния метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, на репаративный гистогенез при лечении ран с дефектом мягких тканей в эксперименте. Заживление «донорских» ран при использовании препарата, как нативного, так и разведённого в 10 раз, происходило достоверно быстрее, чем в остальных группах. Автором впервые доказано, что местное однократное орошение гранулирующей раны метаболитами *Bacillus subtilis* 804 при аутодермопластике улучшает приживание кожных лоскутов. Данный препарат стимулирует реваскуляризацию, клеточную пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов кожи и восстанавливает органотипическое строение кожного покрова, при этом происходит усиление синтеза зрелого коллагена I типа и снижается активность склеротических процессов, что снижает образование рубцов.

В шестой главе диссертации представлены результаты изучения доклинической безопасности метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов. При изучении хронической токсичности выявлено минимальное токсическое воздействие метаболитов *Bacillus subtilis* 804 на организм подопытных животных, которое клинического значения не имеет. При изучении острой токсичности метаболитов *Bacillus subtilis* 804 установлено, что при парентеральном введении в максимальной дозе метаболиты не вызывают летального и выраженного токсического эффекта. Также анафилактической активности и алергизирующего действия у препарата «Винфар» не выявлено.

Заключение отражает основные положения работы, ее новизну, практическую значимость. Проводится обсуждение полученных результатов, автор убедительно показывает преимущества использования метаболитов *Bacillus subtilis* 804, содержащих фактор роста фибробластов, для стимуляции репаративного гистогенеза у лабораторных животных.

Следует особо подчеркнуть, что в результате выполнения данной диссертационной работы Вадиму Анатольевичу Копылову удалось завершить необходимый этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов, применение которого будет способствовать стимуляции репаративного гистогенеза. Результаты диссертационного исследования позволили вплотную подойти к проведению клинических испытаний нового лекарственного препарата, перспективного для лечения осложненной травмы.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из результатов исследования и соответствуют поставленной цели и задачам диссертационной работы.

Результаты исследований достаточно полно освещены в печати, по теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 15 статей - в рецензируемых научных журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» ВАК РФ, 2 статьи - в зарубежных научных изданиях, 3 публикации - в материалах международных конференций, получен патент РФ на изобретение №2431203 «Способ аутодермопластики в эксперименте» и положительное решение о выдаче патента РФ на изобретение «Средство для стимуляции репаративного остеогенеза», заявка 2015124295/15 (037922) от 22/06/2015. Опубликовано и рекомендовано к внедрению в клиническую практику информационно-методическое письмо «Современные аспекты лечения открытых переломов длинных трубчатых костей конечностей»

Основные положения работы доложены и обсуждены на Всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Диссертация хорошо оформлена в компьютерном исполнении. Несмотря на это, в работе имеется ряд недостатков. Отсутствует резюме к главам исследования. Имеются неточности в трактовке систематизации Gustilo R.B. – Andersen J.T. (1976), характеризующей повреждения мягких тканей при открытых переломах.

Выявленные недостатки в оформлении работы принципиального характера не имеют и не снижают общей ее ценности.

#### **Вопросы:**

1 Зависел ли выбор метода остеосинтеза от характера костного повреждения по классификации AO/ASIF: простой перелом A1-A3, клиновидный перелом B1-B3 и сложный – фрагментированный C1, сегментарный C2, многооскольчатый C3 переломы? Выявлена ли взаимосвязь типа костного повреждения с типом повреждения мягких тканей по систематизации Gustilo R.B. – Andersen J.T. (1976)?

2 Какая тактика была применена в клинике в случаях глубокого нагноения раны, и при каких методах остеосинтеза такое осложнение встречалось чаще?

3 Чем на Ваш взгляд обусловлены осложнения после двухэтапного остеосинтеза (3 из 8 случаев), применение которого наиболее показано у больных с открытыми переломами костей конечностей.

### Заключение

Диссертационное исследование Копылова Вадима Анатольевича на тему: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов *BACILLUS SUBTILIS* 804, содержащих фактор роста фибробластов», является самостоятельным законченным научным квалификационным исследованием, в котором содержится новое решение актуальной проблемы лечения открытых переломов костей конечностей с позиции стимуляции репаративного гистогенеза для профилактики осложнений послеоперационного периода. Результаты диссертационной работы можно квалифицировать как доклинический этап разработки оригинального лекарственного препарата, содержащего фактор роста фибробластов, последующее применение которого в клинической практике позволит решить проблему воздействия на репаративный гистогенез при лечении осложненной травмы,

По актуальности, новизне, практической значимости, обоснованности положений и выводов диссертация исследование Копылова Вадима Анатольевича на тему: «Лечение открытых переломов конечностей с использованием метаболитов *BACILLUS SUBTILIS* 804, содержащих фактор роста фибробластов» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г. с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.15 - травматология и ортопедия.

### Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук  
(14.01.15 – травматология и ортопедия),  
профессор кафедры травматологии и ортопедии  
факультета повышения квалификации и  
профессиональной переподготовки Федерального  
государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования «Уральский  
государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации

  
Елена Александровна Волокитина

Подпись д.м.н. Е.А. Волокитиной  
ЗАВЕРЯЮ:  
Начальник управления кадров  
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России  
27 апреля 2017 года



В.Д. Петренко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России). 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. Тел.: (343) 371-34-90, факс 371-64-00, e-mail: usma@usma.ru