

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Вавиловой Татьяны Павловны на диссертационную работу Мелконян Карины Игоревны «Патогенетическое обоснование применения децеллюляризированных и рецеллюляризированных материалов на основе дермы свиньи для лечения ожогов и соединительнотканых дефектов», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3.

Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертационного исследования и связь ее с планами развития медицинской науки и здравоохранения

Для нормального функционирования кожного покрова крайне важен его биохимический состав. Благодаря комплексу входящих в состав кожи биополимеров возможны защитная, секреторная, терморегуляторная и сенсорная функции. Основной частью кожи является дерма, внеклеточный матрикс (ВКМ) которой ответственен за прочность и эластичность кожи благодаря белкам коллагену и эластину, а также за удержание воды, процессы клеточной адгезии и пролиферации за счёт протеогликанов и гликопротеинов. Необходимость замещения кожных дефектов возникает при лечении нарушений целостности кожных покровов при острых ранах (дермабразии, порезы, донорские раны, ожоги первой и второй степени, волдыри, рваные раны, частичные и полнослойные кожные трансплантаты, повреждения кожи после лучевой или стероидной терапии) и хронических ранах (варикозные и пролежневые язвы, язвы при синдроме диабетической стопы). Восстановление подобных дефектов представляют собой существенную медицинскую, социальную и экономическую проблему. В настоящее время разрабатываются биологические материалы на основе компонентов ВКМ, восполняющие тканевые дефекты и состоящих из природных биополимеров, так как они обеспечивают сигналы, влияющие на адгезию, миграцию, пролиферацию, выживание и дифференцировку различных типов клеток за счет содержания

большого количества доменных структур, которые становятся активными после протеолитического расщепления. Кроме того, эти активные фрагменты компонентов ВКМ могут действовать как мощные медиаторы воспаления при повреждении тканей. Следует отметить, что при использовании ксеногенных источников для таких материалов требуется децеллюляризации исходных тканей, которая предусматривает различные подходы и обычно включает воздействие химических и биологических агентов, таких как детергенты и ферменты, а также физическое воздействие, которые неизбежно вызывают разрушение ВКМ. При этом химическая обработка по-разному влияет на ткани – органические кислоты разрушают нуклеиновые кислоты и солибилизируют фосфолипиды цитоплазмы, органические спирты дегидратируют клетки и удаляют остаточные нуклеиновые кислоты и липиды, щелочные растворы денатурируют ДНК, хелатирующие агенты нарушают взаимодействие ВКМ с интегринами, а детергенты – липидно-липидные и липидно-белковые взаимодействия в клеточных мембранах. Ионные детергенты могут удалять гликозаминогликаны и факторы роста из ВКМ и оставлять в тканях остаточные ПАВ, поэтому предпочтение отдается неионным детергентам.

Тем не менее, не существует единой теоретической основы, позволяющей оценить полноту биохимического восстановления ВКМ кожи и эффективность ремоделирования поражённой кожи и соединительной ткани при применении децеллюляризованных материалов на основе свиной дермы, в частности из-за отсутствия данных о балансе между потенциальными полезными эффектами нативных компонентов ВКМ (активные факторы роста и низкомолекулярные пептиды) и неизбежном детергентно-энзиматическим разрушением биополимеров дермы, чему и посвящена диссертационная работа Мелконян Карины Игоревны, научные положения которой имеют важное теоретическое значение и носят прикладной характер для биохимии.

Оценка содержания и качества оформления диссертационной работы

Структура и оформление диссертационной работы соответствуют общепринятым требованиям и стандартам, текст изложен последовательно и

логично. Диссертация содержит 237 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, шести глав собственных исследований, заключения с практическими рекомендациями, выводов, списка литературы и приложений. Диссертация иллюстрирована 16 таблицами и 80 рисунками, список литературы содержит 324 источников, из которых 42 отечественных и 282 зарубежных авторов.

Введение содержит обоснование актуальности и новизны исследования, в нём сформулированы цель и задачи исследования, доказана практическая значимость его результатов, представлены основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы посвящён обзору эффективности применения природоподобных материалов на основе компонентов внеклеточного матрикса в отношении восстановления тканей при ожоговых ранах, приведено описание большого количества аналогов с их достоинствами и недостатками в части алгоритмов биохимической обработки, а также особенностям процессов регенерации кожи и соединительных тканей при локальном воздействии биопластическими и коллагенсодержащими материалами.

Во второй главе представлен дизайн исследования с описанием методов воздействия на биологические материалы и характеристикой групп лабораторных животных, также описаны методы исследования, позволившие провести качественную и количественную оценку всех необходимых показателей воспаления и регенерации при экспериментальном использовании децеллюляризованных и рецеллюляризованных матриксов дермы.

Главы 3-8 посвящены подробному описанию результатов собственных исследований. Данные изложены последовательно, сначала описаны результаты сравнительного анализа эффективности двух алгоритмов обработки дермы с целью получения децеллюляризованных и рецеллюляризованных матриксов дермы, затем была смоделирована ожоговая рана и автором убедительно показана эффективность их применения для лечения ожоговых ран и восполнения дефектов соединительной ткани в эксперименте.

В последующих главах собственных результатов был достаточно подробно описаны результаты применения дермального гидрогеля на основе гидролизованного коллагена внеклеточного матрикса дермы, включая описание его биологических свойств и данные об экспериментальном применении на модели ожоговых ран у мелких лабораторных животных с оценкой изменения содержания про- и противовоспалительных факторов и факторов роста в сыворотке крови.

В заключении резюмируются полученные данные, которые позволяют утверждать, что детергентно-энзиматическая обработка материала является универсальной, экономически целесообразной и доступной техникой децеллюляризации. Децеллюляризация дермы позволяет сохранить её биологическую совместимость, а применение изучаемых матриксов для заживления ожоговой раны приводит к полному восстановлению всех слоев кожи, обеспечивает эпителизацию и миграцию фибробластов, так как происходит более эффективное образование промежуточных филаментов в клетках кожи, нанесение гидрогелевой формы дермального матрикса также активирует ремоделирование тканей и ангиогенез.

Таким образом, выводы продемонстрировали, что намеченная цель исследования была успешно реализована путем решения 9 конкретных наукоемких задач с получением результатов, отличающихся бесспорной новизной.

Степень достоверности и новизны полученных автором результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов были обусловлены применением современных прецизионных высокотехнологичных методов научного исследования, достаточным объёмом экспериментальных групп и наблюдений, статистическая обработка данных была проведена с помощью программного решения GraphPadPrism (GraphPad Software Inc) и пакета программ Microsoft Office.

В исследовании Мелконян К.И. впервые разработаны оптимальные методики детергентно-энзиматической и химической обработки дермы свиньи,

позволяющие получить природоподобные биологические материалы с сохранением ключевых компонентов ВКМ. Уникальным преимуществом предлагаемой автором технологии является отсутствие необходимости использовать сшивающие химические агенты, обладающие высокой токсичностью.

Также получены новые данные о влиянии децеллюляризованных и рещеллюляризованных матрицсв дермы свиньи на локальные репарационные процессы в коже в области её поверхностного повреждения термическим воздействием, что было продемонстрировано также на системном уровне.

Вышесказанное подтверждается патентами, полученными автором на способы моделирования кожной раны у свиней в эксперименте, различные способы обработки и получения дермы свиньи для создания децеллюляризованных дермальных матрицсв, которые могут быть использованы в ожоговой и реконструктивной хирургии.

Обоснованность научных положений, результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В ходе выполнения диссертационной работы автором был использован комплекс биохимических, включая биохимические исследования показателей содержания ДНК, общего белка, коллагена I типа, сульфатированных гликозаминогликанов, гиалуроновой кислоты; иммунологических (иммуноферментный анализ, иммуногистохимический анализ); гистологических и микроскопических методов исследования. При оценке качества децеллюляризации дермы свиньи был использован последовательный подход, заключающийся в поэтапном определении гистологической структуры ткани, наличии интактных ядер, оценки степени вымывания ДНК и, наконец, отсутствия токсического действия оставшихся детергентов на культуре клеток кожи с использованием стандартных методов.

Обоснованность полученных автором результатов и выводов обусловлена адекватной математической обработкой полученных результатов.

Научная и практическая значимость результатов исследования, а также рекомендации по их использованию

Полученные данные, изложенные в диссертационной работе, представляют научную значимость, заключающуюся в расширении представлений о воздействии компонентов ВКМ дермы и гидролизованного коллагена на механизмы регенерации кожи, и могут послужить фундаментальной основой для разработки новых подходов в биохимии и регенеративной медицине.

Полученные результаты могут быть использованы для решения актуальных задач клеточной терапии и регенеративной медицины, так как выделенные из тканей клетки на ранних пассажах культивирования существенно меняют свои функциональные свойства и фенотип из-за различных синтетических полимеров в лабораторном пластике. В связи с чем, разработанные коллагенсодержащие материалы помогут воссоздать естественное микроокружение клеток, которое теряется при переводе клеток из нативной ткани в условия *in vitro*.

Предложенные технологии обработки дермы свиньи также могут быть использованы для разработки альтернативных подходов в терапии травматических повреждений кожных покровов, в ряде случаев могут помочь отказаться от оперативного вмешательства, что имеет большое значение в медицинской практике, а также могут способствовать научно обоснованному поиску и рациональному отбору новых средств для решения проблем реконструктивной хирургии.

Внедрение результатов исследования

Разработанные в диссертации положения внедрены в методическую работу на кафедры ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, в работу хирургических отделений ГБУЗ «ККБ №2», ГБУЗ ККБ СМП; ожоговых отделений ГБУЗ «НИИ – ККБ №1 им С.В. Очаповского», в научную работу лаборатории разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний

ГБУЗ «НИИ – ККБ №1 им С.В. Очаповского», а также в производство раневых покрытий на предприятие ООО «АБ МЕДИКАЛ».

Полнота опубликования основных результатов исследования

По материалам диссертации всего опубликовано 43 научные работы, в том числе 16 статей – в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 9 статей в журналах, входящих в международные базы данных и системы цитирования Web of Science и/или Scopus; 4 патента (RU) на изобретение; 23 тезиса в материалах российских и международных конференций и форумов.

Основные результаты исследований были представлены на IV Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2019), X Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2020), VIII Международной научной Интернет-конференции «Физико-химическая биология» (Ставрополь, 2020), TERMIS EU 2020 (Манчестер, 2020), XVII научно-практической межрегиональной заочной конференции «Биомедицина и биомоделирование» (Москва, 2021), III Всероссийской научно-технической конференции «Состояние и перспективы развития современной науки по направлению «Биотехнические системы и технологии» (Анапа, 2021), Краевой отчетной конференции грантодержателей Кубанского научного фонда (Сочи, 2021), VII Съезде биохимиков России, X российском симпозиуме «Белки и пептиды», VII съезде физиологов СНГ (Сочи, 2021), 6th International World Congress TERMIS (Маастрихт, 2021), научно-практической конференции с международным участием «БИОХИМИЯ XXI ВЕКА» (Краснодар, 2021), международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2021), III Международной конференции «Время научного прогресса» (Волгоград, 2022), 1-ом круглом столе «Новые полимерные и композиционные материалы: наука и бизнес» (Калининград, 2022), Краевой отчетной конференции

грантодержателей Кубанского научного фонда (Сочи, 2022), IX Всероссийской научной молодежной школе-конференции «Химия, физика, биология: пути интеграции» (Москва, 2022), II Международной научно-практической конференции «Клеточные технологии в экспериментальной медицине» (Курск, 2022), V Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2022), 26-ой международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА» (Пущино, 2023).

Замечания

Диссертация К.И. Мелконян, весьма компактна для такого рода работ, что только подчеркивает способность автора кратко и ясно формулировать свои суждения, заключения и выводы по результатам исследования, анализировать данные мировой литературы.

Положительно оценивая представленную диссертацию в целом, хотелось бы задать уточняющий вопрос автору:

Насколько биохимический состав кожи свиньи соответствует коже человека, и можно ли по предложенным методикам обработать дерму других животных?

Заключение

Диссертационная работа Мелконян Карины Игоревны, представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, в результате которой разработаны уникальные методики детергентно-энзиматической обработки дермы свиньи, позволяющие получить тканезамещающие материалы с сохранением компонентом внеклеточного матрикса, которые могут быть использованы в качестве раневого покрытия и для экспериментальной восстановительной пластики, так как способствуют ранней эпителизации, накоплению цитокератина и ресинтезу коллагена и обладают способностью к биоинтеграции в соединительные ткани.

Диссертационная работа Мелконян Карины Игоревны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации «О порядке

присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 №1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры биологической химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Российский университет медицины»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор



Татьяна Павловна Вавилова

Подпись профессора Вавиловой Т. П. заверяю
Ученый секретарь федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Российский университет медицины»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук



Раснер Павел Ильич

«20» декабря 2026 г.

127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, 4, телефон 8 (495) 609-67-00
e-mail: info@rosunimed.ru