

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, Власова Тимура Дмитриевича на диссертационную работу Мелконян Карины Игоревны на тему «Патогенетическое обоснование применения децеллюляризированных и рецеллюляризированных материалов на основе дермы свиньи для лечения ожогов и соединительнотканых дефектов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертации

Актуальность темы исследования определяется запросом современной медицины на лечение травм, сопровождающихся крупными дефектами кожи, в первую очередь, ожоговых травм. Ожоговая травма составляет 2,4% от общего количества травм, и в России ежегодно за медицинской помощью обращается около 450 тысяч пострадавших от ожогов. Очень часто для закрытия ожоговой раны требуется ее покрытие тканезамещающим материалом. На сегодняшний день разработка тканезамещающих материалов является междисциплинарной областью исследований, но полное воспроизведение свойств внеклеточного матрикса (ВКМ) представляет собой большую проблему. Более того, несмотря на технологический прогресс, подавляющее большинство искусственных матриксов не удовлетворяет требованиям медиков к таким конструкциям, поскольку не обладает оптимальной биосовместимостью. Каркасы, биологические или искусственные, призваны воспроизводить структуру ткани и обладать соответствующими физическими, химическими и механическими свойствами для обеспечения клеточной пенетрации и формирования трехмерной ткани при засеивании собственными клетками, которые могли бы прижиться при имплантации. Биологические ткани необходимо децеллюляризировать, чтобы сделать их неиммунногенными, однако этот процесс должен быть нацелен на

сохранение биохимического состава, тканевой структуры, а также достаточных механических свойств сохранившегося внеклеточного матрикса. Фактически, децеллюляризация позволяет исследователям получать бесклеточные, естественные внеклеточные матриксы, характеризующиеся адекватной трехмерной организацией и правильным молекулярным составом. Диссертационной работа Мелконян К.И. посвящена патогенетическому обоснованию медицинской технологии применения подобных матриксов при реконструктивной и ожоговой хирургии в экспериментальных моделях.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Полученные результаты имеют научную новизну и высокую значимость, как для науки, так и для практики. Подтверждена эффективность применения оригинальных биорезорбируемых биопластических материалов, не содержащие синтетических сшивающих агентов, в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств. Разработана оригинальная модель ожоговой раны на крупном животном (свинья), позволяющая оценить эффективность применения децеллюляризованных и рецеллюляризованных материалов на основе дермы, как при раннем, так и при этапном хирургическом лечении гранулирующей раны. Оценка клинико-гистологической картины позволила установить, что использование исследуемых материалов в качестве раневого покрытия при ожоговых ранах создает оптимальные условия для регенерации кожи при условии их рецеллюляризации дермальными фибробластами. Установлено, что происходит усиление миграции фибробластов, ранняя эпителизация и уменьшается риск образования келоидных рубцов из-за высоких уровней виментина, цитокератина и низких темпов ресинтеза коллагена I типа. Было установлено, что внесение экзогенных биологических компонентов ВКМ – коллагена и его гидролизатов, а также гиалуроновой кислоты оказали значительное влияние на регуляцию синтеза противовоспалительных цитокинов, что, способствовало оптимизации сроков успешной эпителизации

и заживления раны. Выявлено потенциальное положительное влияние гидролизатов коллагена на процессы эпителизации и их негативное влияние на формирование келлоидных рубцов по динамике изменения уровней факторов роста, контролирующих процессы синтеза и созревания коллагена в области ожоговой раны.

Полученные данные о механизмах регенерации кожи и о патогенетической природе возникающих в тканях на стадии ремоделирования в ответ на воздействие компонентов ВКМ дермы могут послужить фундаментальной основой для разработки новых подходов в регенеративной медицине.

Научная новизна исследования подтверждена четырьмя патентами, которые посвящены оценке моделированию ожоговых ран у крупных лабораторных животных, а также способам децеллюляризации дермы свиньи для получения децеллюляризованных дермальных матриксов.

Научно-практическая и теоретическая значимость результатов исследования

Автором проведены исследования не только на мелких лабораторных животных, но и на крупных животных, что приближает внедрение в клиническую практику данных экспериментальных исследований. Основным достоинством настоящего исследования является то, что полученные автором результаты имеют большой потенциал для практического применения. Разработанные материалы могут быть использованы лабораториями научно-исследовательских институтов в сфере здравоохранения или биологического профиля, специализирующихся на клеточной или тканевой инженерии и культивировании культур клеток для регуляции клеточной адгезии, дифференцировки, пролиферации и миграции клеток. Полученные данные могут быть использованы в разработке протоколов по применению биопластических материалов в комбустиологии (раневые покрытия, композиционные повязки на основе биополимерного геля, стимулирующие

регенерацию кожи), которые будут препятствовать дополнительному травмированию пациентов по сравнению с аутопластикой, а также могут стать теоретической основой для патогенетического обоснования применения других децеллюляризованных детергентно-энзиматическим способом материалов в различных моделях повреждения тканей для патологической физиологии.

Обоснованность и достоверность основных положений диссертации

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объёмом выполненных экспериментальных исследований, полученных лабораторных данных, использованием в работе широкого спектра современных методов исследования, позволяющих эффективно решить поставленные задачи, адекватной статистической обработкой полученных данных с использованием специализированного современного программного обеспечения. Автором проведены исследования на разных видах животных: крысах и свиньях, проведены физиологические, гистологические, иммунологические исследования, а также использованы клеточные технологии. Дизайн исследования построен грамотно, использованы правильные и адекватные группы сравнения. На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что научное исследование проведено в полном объеме с анализом достаточного количества материала, сформулированные основные положения диссертации не вызывают сомнений и возражений, что обусловило достоверность приводимых в диссертации научных положений, выводов и рекомендаций.

Все научные положения, выносимые на защиту, логично вытекают из фактического материала, полностью соответствуют поставленной цели диссертационной работы, подтверждены анализом полученных результатов исследования и являются значимыми как в теоретическом, так и в практическом плане. Проведенные автором исследования по разработке методик детергентно-энзиматической и щелочной обработки дермы свиньи для

получения биологических материалов с сохранением компонентов внеклеточного матрикса соответствуют п. 11 «...Проблемы химической и биохимической обработки органов, тканей и искусственных материалов, их хранения и применения как трансплантатов» паспорта специальности 1.5.4 Биохимия. Дальнейшие этапы диссертационного исследования, посвящённые изучению механизмов экзогенного воздействия полученных биоматериалов на регенерацию и биохимические особенности динамики восстановления компонентов ВКМ кожи и соединительной ткани при моделировании тканевых дефектов, соответствуют п. 11 «Разработка новых путей этиотропной и патогенетической терапии с учетом взаимодействия лечебных мероприятий с защитно-приспособительными реакциями организма» паспорта специальности 3.3.3 Патологическая физиология.

Оценка содержания и качества оформления диссертационной работы

Структура и оформление диссертационной работы соответствуют требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011, текст изложен весьма компактно (на 237 страницах компьютерного текста), что только подчеркивает способность автора кратко и ясно формулировать свои суждения, заключения и выводы по результатам исследования, анализировать данные мировой литературы (324 источника, из которых 284 зарубежных). Диссертация включает введение, обзор литературы, главу, описывающую материалы и методы исследования, главы собственных исследований, заключение, выводы и список литературы (16 таблиц, 80 рисунков).

Введение имеет стандартную структуру, актуальность исследования логично связана с формулировкой цели, которая была успешно реализована путем решения 9 конкретных наукоёмких задач с получением результатов, отличающихся бесспорной новизной.

В главе «Обзор литературы» автором был проведен подробный анализ существующих методов и подходов к децеллюляризации различных тканей, а

также детально раскрыты особенности различных стадий репаративного процесса при повреждениях кожи и дан обзор современных способов экзогенного воздействия на поврежденные ткани биологическими коллагенсодержащими материалами.

В главе «Материалы и методы» дана характеристика методов обработки дермы свиньи с последующей поэтапной оценкой качества и безопасности полученных биологических материалов, полностью описано формирование групп лабораторных животных и условия их содержания, затем автор подробно излагает лабораторные методы анализа образцов материалов, полученных от лабораторных животных и использованные подходы для статистической обработки данных.

В главе № 3 результатов исследования пошагово описан подбор более оптимального способа детергентно-энзиматической обработки дермы свиньи, основываясь на гистологической и биохимической структуре материалов и их биологических свойствах по отношению к клеткам кожи. В главе 4 описана сравнительная эффективность применения децеллюляризованных и рецеллюляризованных материалов на основе дермы свиньи для лечения различных типов ожоговых повреждений, показано преимущество рецеллюляризованного матрикса в заживлении раны.

В главах 5 и 6 автор описывает обоснование эффективности использования модифицированного алгоритма при обработке дермального матрикса для реконструктивной хирургии с сохранением его биомеханических свойств и применение его в качестве хирургического импланта для замещения дефектов соединительной ткани. В качестве объекта сравнения использовался коммерческий имплант. Доказано, что по своим свойствам модифицированный децеллюляризованный материал не уступал коммерческому импланту, что делает перспективным внедрение в практику проведенного исследования. В главах 7 и 8 описаны этапы получения и применение коллагенсодержащего гидрогеля на основе биополимеров дермы свиньи для лечения ожоговых ран. Проведено исследование клеточных и

иммунных реакций на ожоговую рану при использовании коллагенсодержащего гидрогеля и препаратов сравнения. Эти серии исследований также показали высокую эффективность применения биополимеров дермы свиньи для восстановления кожи.

В заключении резюмируются полученные данные, которые позволяют утверждать, что тканевые и клеточные реакции в области применения децеллюляризированных материалов на основе дермы протекают более эффективно и происходит репарация и ремоделирования соединительной ткани и кожи при замещении повреждений и дефектов данными материалами. При использовании гидрогелевого материала для лечения ожоговых ран наблюдается полное восстановление кожи в поражённой области в более ранние сроки с большим количеством фибробластов и слоёв эпидермиса.

Полнота опубликования основных результатов исследования

По материалам диссертации всего издано 43 научные публикации, из них 16 – в изданиях центральной печати, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации, получено 4 патента РФ на изобретения.

Основные результаты исследований были представлены на международных научных конференциях, всероссийских конференциях и на региональных научно-практических мероприятиях.

Вопросы и замечания

Тем не менее, в процессе прочтения диссертации возникло несколько вопросов:

1. При закрытии раны ацеллюлярным дермальным матриксом восстановление кожи в ране было хуже, чем при использовании рецеллюляризированного дермального матрикса. Учитывая, что кожа содержит большое количество эпителиальной ткани, с чем диссертант связывает лучшее восстановление

эпителия?

2. С чем связаны более высокие уровни провоспалительных цитокинов после ожоговой раны у крыс в опытной группе (при использовании гидрогеля) и группе сравнения, по сравнению с контрольной? Тем более, что гидрогель, согласно предыдущей серии исследований, ускорял заживление ожоговой раны и уменьшал дегрануляцию тучных клеток.

3. Как бы автор определила, когда и в каких условиях предпочтительнее использовать ацеллюлярный дермальный матрикс, а когда коллагенсодержащий гидрогель на основе биополимеров дермы при лечении ожоговой раны?

Вопросы имеют дискуссионный характер и не влияют на общую положительную характеристику работы.

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 докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор


Тимур Дмитриевич Власов



Сделаны руки заверяю: *Власов Т.Д.*
Специалист по кадрам
Мищелёва *М.А.*

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8; info@1spbgmu.ru;
www.1spbgmu.ru; 8(812)338-78-95