ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего 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 Власова Тимура Дмитриевича на диссертационную работу Мелконян Карины Игоревны на тему «Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств», 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 разработке и 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. Созданы оригинальные биорезорбируемые биопластические материалы, не содержащие синтетических сшивающих агентов, которые могут служить прототипами для последующей разработки медицинских изделий – раневых покрытий и хирургических имплантов. Разработана оригинальная модель ожоговой раны на крупном животном (свинья). Оценка клинико-гистологической картины позволила установить, что использование ацеллюлярного дермального матрикса (АДМ) в качестве раневого покрытия при ожоговых ранах создает оптимальные условия для регенерации кожи. Установлено, что АДМ усиливает миграцию фибробластов, раннюю эпителизацию и уменьшает риск образования келоидных рубцов, обеспечивая высокие уровни виментина, цитокератина и низкие темпы ресинтеза коллагена I типа, отсутствие динамики в уровнях коллагена IV типа и фибронектина. 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 коллагенов 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 ацеллюлярного дермального матрикса.

Научно-практическая и теоретическая значимость результатов исследования

Автором проведены исследования на мелких лабораторных животных, а также на крупных животных, что приближает внедрение в клиническую практику экспериментальных исследований. Основным достоинством настоящего исследования является то, что полученные автором результаты имеют очень 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, что будет препятствовать дополнительному травмированию пациентов по сравнению с аутопластикой), дерматологии, реконструктивной хирургии (применение АДМ в качестве хирургических имплантов для маммопластики и герниопластики) и регенеративной медицине (терапия трофических язв, создание искусственных эквивалентов кожи.

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 детергенто-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. 3 «Изучение механизмов системных изменений при локальном повреждении и закономерностей генерализации патологических процессов», п. 11 «Разработка новых путей этиотропной и патогенетической терапии с учетом взаимодействия лечебных мероприятий с защитно-приспособительными реакциями организма» и п. 12. Изучение механизмов восстановления и поддержания гомеостаза при хирургических воздействиях с учетом компенсаторно-приспособительных реакций 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 222 страницах компьютерного текста), что только подчеркивает способность автора кратко и ясно формулировать свои суждения, заключения и выводы по результатам исследования, анализировать данные мировой литературы (320 источников, из которых 274 зарубежных). Диссертация включает введение, обзор литературы, главу, описывающую материалы и методы исследования, главы собственных исследований, заключение, выводы, список литературы и иллюстративного материала (13 таблиц, 84 рисунка).

Введение имеет стандартную структуру, актуальность исследования логично связана с формулировкой цели, которая была успешно реализована путем решения 9 конкретных наукоемких 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 описана технология изготовления ацеллюлярного дермального матрикса (АДМ) в качестве раневого покрытия и в главе 4 описано исследование применения АДМ для лечения ожоговых ран проведено сравнение ацеллюлярного с рецеллюляризированным матриксом. Показано преимущество рецеллюляризированного матрикса в заживлении раны.

В главах 5 и 6 автор описывает как разработку технологии приготовления биопластического материала – ацеллюлярного дермального матрикса для реконструктивной хирургии так и исследование его механических свойств и применение его в качестве хирургического импланта. В качестве сравнения использовался коммерческий имплант. Доказано, что по своим свойствам АДМ не уступает коммерческому импланту, что делает перспективным внедрение в практику проведенного исследования. В главаяз 7 и 8 описаны разработка 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 методов сравнения. Эти серии исследований также показали высокую эффективность разработанного препарата.

В заключении резюмируются полученные данные, которые позволяют утверждать, что тканевые и клеточные реакции в области расположения разработанного АДМ протекали более эффективно, и наблюдалось постепенное замещение материала вновь образованной соединительной тканью при его использовании в качестве биопластического материала в экспериментальной хирургии. В отношении разработанного дермального гидрогеля была показана

оптимизация сроков заживление ожоговых раны, за счет активной регенерации тканей в поражённой области.

Полнота опубликования основных результатов исследования

По материалам диссертации всего издано 57 научных публикаций, из них 33 – 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 восьми международных научных конференциях, семи всероссийских конференциях и на трёх региональных научно-практических мероприятиях.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний к работе Мелконян К.И. нет. В качестве пожелания было бы правильно в заключении диссертации увидеть схему, отражающую установленные и предполагаемые механизмы репаративного воздействия на ожоговую рану полученных биоматериалов на основе данных о динамике факторов роста и про- и противовоспалительных цитокинов.

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.
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 детергенто-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 действующей редакции), 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

Т.Д. Власов

Подпись руки заверяю:
Специалист по кадрам
М.А.Пищелёва
«05» 08 2024 г.

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

В диссертационный совет 21.2.014.02.
на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»
Минздрава России
(350063 г. Краснодар, ул. имени Митрофана Седина, дом 4)

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте Власове Тимуре Дмитриевиче по диссертации Мелконян Карины Игоревны на тему: «Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств» представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия (медицинские науки).

Фамилия, имя отчество	Место основной работы, должность	Учёная степень, звание, шифр специальности	Основные научные труды
Власов Тимур Дмитриевич	Заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии научно-образовательного института биомедицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский	Доктор медицинских наук, профессор 3.3.3. Патологическая физиология Св-во ДТ №011999 от 17.01.1992 г.	1.Роль микроциркуляторных нарушений в патогенезе бисфосфонат-ассоциированного остеонекроза (обзор литературы) / Петросян А.Л., Ярёменко А.И., Виноградов С.Ю., Власов Т.Д. // Институт стоматологии. 2023. № 4 (101). С. 96-98. 2.Дисфункция эндотелия как типовое патологическое состояние / Власова Т.И., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2022. Т. 21. № 2 (82). С. 4-15. 3.Биомаркеры костной регенерации в челюстно-лицевой хирургии: критический обзор литературы / Косач Г.А., Кутукова С.И., Власов Т.Д., Яременко А.И. // Пародонтология. 2021. Т. 26. № 4. С. 284-288. 4.Молекулярно-клеточные основы патогенеза острого респираторного дистресс-синдрома. современные подходы к

	университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации		патогенетической терапии / Пугач В.А., Чепур С.В., Тюнин М.А., Власов Т.Д., Степанов А.В., Никишин А.С., Мясников В.А. // Патогенез. 2021. Т. 19. № 4. С. 4-14. 5.Протекторное влияние биорегуляторных пептидов при действии постоянного магнитного поля на органотипическую культуру тканей различного генеза / Чалисова Н.И., Рубинский А.В., Власов Т.Д. // Молекулярная медицина. 2020. Т. 18. № 2. С. 51-53. 6.Применение иммуногистохимической реакции на нестин для определения размеров повреждения мозга при транзиторной окклюзии средней мозговой артерии / Колпакова М.Э., Бельдиман Л.Н., Яковлева А.А., Кирик О.В., Коржевский Д.Э., Власов Т.Д. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2019. Т. 63. № 3. С. 148-154.

Организация по месту работы оппонента подтверждает, что соискатель не является сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ.

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО
«ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Минздрава России
академик РАН, д.м.н., профессор

Ю.С. Полушин

09.07.24