

## Отзыв

официального оппонента, профессора кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Роговой Людмилы Николаевны на диссертационную работу Мелконян Карины Игоревны «Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств», представленную к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия

### Актуальность темы диссертации

Одной из важнейших и до конца не решенных проблем комбустиологии, хирургической онкологии, косметологии является большая площадь и глубина повреждения тканей, как температурным фактором, так и скальпелем хирурга, опухолью, приводящая к масштабному тканевому дефициту, потере барьерных свойств кожи, создающей прямую угрозу жизни. Проблему решают, используя природные биополимеры, синтезируемые животными, растениями, микробами. Эти материалы по механизму действия несовершенны. Подходы в решении проблемы закрытия дефекта кожных покровов и восстановления её барьерных свойств периодически меняются, в частности, в последние годы разрабатываются довольно дорогостоящие биоактивные полимерные каркасы на основе целлюлозы, гиалуроновой кислоты, коллагена, эластина. Представляется, что одним из самых перспективных биоматериалов для закрытия больших площадей тканевых дефектов является биопластический материал на основе внеклеточного матрикса с обязательной децеллюляризацией. После

децеллюляризации дермы сохраняются условия для контакта с ростовыми факторами, ремоделирования внеклеточного матрикса, деградации эластина, коллагена, в конечном итоге – для восстановления полноценных барьерных свойств кожи.

Принято считать, что очищенная от клеток ткань теряет иммуногенные свойства и её можно использовать для алло- и ксеногенной трансплантации. При этом ацеллюлярные ткани представляют собой ничто иное как, экстрацеллюлярный матрикс, включающий, прежде всего нативные коллагеновые волокна, гетерополисахариды и сигнальные молекулы. Описаны различные биологические материалы, отличающиеся по первичному сырью, способам обработки, особенностям процессов децеллюляризации и рецеллюляризации.

Биологические каркасы должны обладать разными свойствами. Во-первых, способностью стимулировать клеточную пролиферацию, хемотаксис, неоангиогенез, ремоделирование тканей пациента и другие свойства, способствующие интеграции с тканями донора, во-вторых, они не должны содержать продукты деградации клеток, даже минимальные концентрации химических детергентов, которыми их обрабатывали. В этой связи существует много нерешенных проблем, связанных с выбором материала и алгоритма обработки каркаса, а также с повышением эффективности васкуляризации и рецеллюляризации матриксов и ремоделирования тканей, создающие условия для полноценной репарации тканей при различных патологических процессах.

В этом контексте представленная работа К.И. Мелконян является актуальной, раскрывающей новые морфо - функциональные особенности патогенеза раневого процесса в зоне глубокой ожоговой альтерации кожи III и IV степени и включающей разработку биопластического материала на основе внеклеточного матрикса дермы с децеллюляризацией и усилением пролиферации, последующим обоснованием эффективности его применения.

## Степень достоверности и новизна результатов диссертационного исследования

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных методов математической статистики с применением программ GraphPadPrism и Microsoft Excel 2010. Применялись методы статистики с определением средних и распределений, медианы с первым и третьим квартилем, критерия Пирсона, критерия Фишера, Манна-Уитни, Вилкоксона. Кроме того, достоверность полученных результатов определялась информативностью примененных методов и достаточным объемом исследованного материала.

Дизайн исследования был одобрен на заседании Независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол №96 от 29.01.2021 г.) в соответствии с международными этическими правилами, предписаниями и положениями.

Новизна исследования подтверждена 4-мя патентами. Автором предложена оригинальная методика детергентно-энзиматической обработки дермы, позволяющая расширить возможности обработки сырья с различной массой и максимальным сохранением гистологической структуры дермы без использования сшивающих токсических агентов.

Впервые разработаны биопластические материалы, не содержащие синтетических сшивающих агентов, эффективность которых доказана на основании комплексного исследования их биосовместимости и возможности применения в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств.

Автор разработал технологию получения дермального гидрогеля, применяемого в качестве раневой повязки при лечении ожогов и являющихся одним из ключевых способов терапии при обширном и глубоком раневом процессе. В ходе диссертационного исследования, была доказана его способность активировать регенерацию кожи без осложнений и побочных действий, без токсичности и иммуногенности. Разработанный гель по

эффективности и отсутствию повреждающих эффектов сравним с «золотым» стандартом лечения ожоговых дефектов методом аутопластики кожи.

### **Ценность для науки и практики результатов исследования**

Автором получены данные о механизмах регенерации кожи при ожоговой травме, в которых значимую роль играют компоненты дермального внеклеточного матрикса и рецеллюляризации этой зоны. Эти механизмы могут стать основополагающими для формирования новых фундаментальных подходов в регенеративной медицине. При этом разработанные материалы на основе биополимеров кожи свиньи могут быть использованы в лабораториях, специализирующихся на клеточной и тканевой инженерии, а также при выращивании клеточных культур для контроля адгезии, дифференцировки, пролиферации и миграции клеток.

На основании полученных результатов исследования и авторских разработок сформулированы альтернативные подходы в реконструктивной пластике, путем использования биоинтегрируемого ацеллюлярного дермального матрикса в качестве хирургического имплантата.

Сформулированные диссертантом новые способы и приемы в реконструктивной медицине описаны в методических рекомендациях и учебном пособии, которые используются в учебном процессе на кафедре факультетской и госпитальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Предлагаемые новые подходы применяются в лечебной работе хирургических отделений ГБУЗ Краевая клиническая больница № 2 министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ Краевая клиническая больница скорой медицинской помощи министерства здравоохранения Краснодарского края; Кроме того, разработанные методы используются в научной и лечебной работе ожоговых отделений и лаборатории новых технологий лечения заболеваний ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» министерства здравоохранения Краснодарского края. Запатентованный способ подготовки дермы свиньи

для создания ацеллюлярного дермального матрикса внедрен в производство раневых покрытий на предприятие ООО «АБ МЕДИКАЛ».

### **Оценка содержания, завершённости и оформления диссертации**

Изложение материалов диссертации соответствует классической схеме. Диссертация состоит из введения, в котором автор определяет актуальность исследования, степень разработанности темы исследования, цель, задачи, научную новизну и практическую значимость работы. Глава 1 включает обзор литературы. Глава 2 содержит детальное описание алгоритма проведения экспериментов и используемых методов исследования. Следующие шесть глав посвящены описанию полученных результатов. Далее сформулированы выводы и обозначен список цитируемой литературы. Работа изложена на 222 страницах, хорошо иллюстрирована (14 таблиц, 84 рисунка). Список литературы содержит 320 источников, из которых 46 отечественных и 274 зарубежных авторов.

Диссертационное исследование построено логично, наблюдается четкая взаимосвязь между главами диссертации, структура работы позволяет сделать вывод о всестороннем понимании автором исследуемого вопроса и комплексном подходе при изложении материала.

В обзоре литературы автор представляет данные об особенностях процессов регенерации кожи при локальном воздействии биопластическими материалами, также описаны различия в нарушении регуляции репарации в отношении острых и хронических раневых процессов. Подробно охарактеризованы новые биопластические материалы для восстановления кожных и тканевых дефектов, вызванных травмами, ожогами, инфекциями и системной патологией, в том числе полученной с помощью децеллюляризации.

В главе 2, посвященной методам и объекту исследования, автором достаточно подробно описаны использованные алгоритмы получения и обработки сырья, протоколы биохимических исследований, включая определение содержания ДНК, общего белка, коллагена I типа,

сульфатированных гликозаминогликанов, гиалуроновой кислоты; а также данных иммунологических (иммуноферментный анализ, иммуногистохимический анализ), гистологических и микроскопических исследований. Большое число исследуемых групп животных, тестируемых и разрабатываемых материалов, а также моделируемых патологических процессов не позволило автору сформировать общий дизайн исследования.

В главах, посвященных результатам исследования, К.И. Мелконян было показано, что на первом этапе работы был разработан ацеллюлярный дермальный матрикс, прошедший экспериментальные исследования *in vivo* и *in vitro*, в которых определялась общая и местная токсичность, его биомеханические свойства. Автор разработал протокол хирургического вмешательства с использованием фиксирующего биоматрикса в условиях экспериментальной модели на крупных лабораторных животных (свиньях). Проведена оценка ранних результатов хирургического лечения, включая степень биодеградации матрикса и наличие деформации/смещения протеза относительно места первоначальной установки. Подробно изложен сравнительный анализ патоморфологии раневого ложа перед закрытием ожоговой раны с помощью разработанного ацеллюлярного дермального матрикса, что позволило выявить особенности морфологической картины ран в зависимости от типа повреждения.

Выявлено, что заживление ран представляет собой сложный динамический процесс, в котором взаимодействие между клетками, секреторными факторами и компонентами внеклеточного матрикса определяет эффективность процесса ремоделирования. В связи с этим в диссертационной работе показано, что разрабатываемые материалы обеспечивают подходящую микросреду, обладают репаративными и биомиметическими свойствами.

В частности, в проведенном исследовании была продемонстрирована эффективность использования дермального гидрогеля на основе внеклеточного матрикса дермы свиньи при экспериментальном лечении

поверхностных ожоговых ран. При использовании дермального гидрогеля на ожоговых ранах животных в более короткие сроки наблюдалось полное восстановление кожи в поражённой области, активаторами регенерации выступают IGF1, TGF $\beta$ 1, PDGF, VEGF. Регенерация развивается на фоне весьма умеренного увеличения уровня провоспалительных цитокинов, в частности, неспецифических системных маркеров воспаления IL1, IL6, TNF $\alpha$ , а также уменьшения противовоспалительных цитокинов IL4, IL10 и неизменном уровне IL 8 основополагающим действием которого является хемотаксис.

В заключении проведен анализ полученных данных, удачно структурированы результаты с привлечением современных сведений из мировой литературы, дана оценка перспективы дальнейшей разработки темы. Работа содержит 8 выводов, которые достаточно полно отображают полученные результаты, соответствуют сформулированным задачам и подтверждают достижение цели диссертационного исследования. Таким образом, структура и содержание работы свидетельствуют о завершённом научном исследовании, в котором получены новые научные результаты.

#### **Полнота опубликования и представления основных результатов диссертации**

По материалам диссертации автором опубликовано 57 печатных работ, в том числе 33 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, или индексируемых базой данных RSCI, или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертаций на соискание учёной степени доктора/ кандидата медицинских наук, в том числе 21 работа в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и WoS, 4 патента РФ на изобретение.

Основные результаты выполненного научного исследования были доложены с 2019 по 2023 годы Мелконян К.И. на ведущих международных и всероссийских научно-практических мероприятиях, соответствующих тематическому профилю диссертационной работы.

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат Карины Игоревны Мелконян имеет классическую структуру и построение в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011. Содержание автореферата в полной мере отражает основные положения диссертации. Замечаний по оформлению автореферата нет.

### **Замечания официального оппонента по диссертации**

Принципиальных недостатков в рецензируемой работе не обнаружено. Обнаруженные стилистические недочёты и орфографические неточности составляют малую долю текста работы и не искажают текстовое содержание, а также результаты и выводы диссертации.

К замечаниям можно отнести наличие некоторых публикаций в изданиях клинического профиля, а также в журналах по специальности 3.1.14. «Трансплантология и искусственные органы».

Следует отметить, что высказанные замечания не снижают положительной оценки рецензируемой диссертации в целом.

В порядке дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

- 1) Роль металлопротеиназ в механизме неоангиогенеза при ожоговой травме;
- 2) Ведущее звено влияния дермального гидрогеля на ткани в зоне ожоговой альтерации;
- 3) С какой целью в работе определялись четыре типа ростовых факторов?
- 4) В каком случае эксперимент проводили на свиньях, а в каком на крысах линии Вистар?

### **Заключение**

Диссертационная работа Мелконян Карины Игоревны на тему «Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств» в которой автор определил ведущие морфо-функциональные механизмы

формирования раневого процесса, включая ожоговую травму III Б и IV степени, выявил механизмы активации пролиферации в зоне ожоговой альтерации, обосновал и апробировал новый подход к патогенетической коррекции раневого процесса. Диссертационная работа по актуальности, новизне, цели и объему, проведенных исследований полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор – Мелконян Карина Игоревна – заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры  
патологии, клинической  
патологии  
ФГБОУ ВО «Волгоградский  
государственный медицинский  
университет»  
Министерства здравоохранения РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор  
(3.3.3. Патологическая физиология)

Рогова Людмила Николаевна

Подпись профессора кафедры патологии, клинической патологии  
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения РФ, доктора медицинских наук, профессора  
Роговой Людмилы Николаевны заверяю  
Ученый секретарь ученого совета  
ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России  
кандидат медицинских наук, доцент



Емельянова Ольга Сергеевна

400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1  
Тел: 8 (844) 238-50-05, e-mail: rogovaln@mail.ru

«26» \_\_\_\_\_ 2024

## СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Мелконян Карины Игоревны на тему «Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия (медицинские науки), представленной для защиты в диссертационный совет 21.2.014.02., действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063 г. Краснодар, ул. имени Митрофана Седина, дом 4, т. (861)2625018), адрес электронной почты: corpus@ksma.kubannet.ru; адрес официального сайта в сети «Интернет»: <http://www.ksma.ru>)

№	Фамилия Имя Отчество рецензента	Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	Учёная степень (шифр специальности, по которой присуждена учёная степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников, № свидетельства)	Учёное звание
1	Рогова Людмила Николаевна	Профессор кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации	Доктор медицинских наук, 3.3.3. Патологическая физиология Св-во ДТ №010620 от 01.02.2002 г.	профессор
Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий или МБД		<p>1. Влияние локального введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы на уровень экспрессии матричных металлопротеиназ при экспериментальной тендинопатии / Маланин Д.А., Ласков И.Г., Экова М.Р., Рогова Л.Н., Григорьева Н.В., Поветкина В.Н., Демещенко М.В., Воронина А.В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2023. № 3. С. 118-124.</p> <p>2. Показатели активности желатиназы в в покровном эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки желудка при экспериментальной ацетатной язве у крыс / Рогова Л.Н.,</p>		

Шестернина Н.В., Поветкина В.Н., Старавойтов В.А., Фастова И.А., Замечник Т.В., Губанова Е.И., Дьячкова С.Ю., Попов Д.А. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021. № 8 (192). С. 150-153.

3. Сравнительная оценка методов моделирования острого экспериментального панкреатита / Рогова Л.Н., Ермак М.В., Григорьева Н.В., Экова М.Р., Попов Д.А., Шестернина Н.В., Поветкина В.Н. // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2021. № 4. С. 16-20.

4. Структурные изменения сухожилия при экспериментальной тендинопатии и введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы / Маланин Д.А., Рогова Л.Н., Григорьева Н.В., Экова М.Р., Поветкина В.Н., Ласков И.Г., Демещенко М.В., Сучилин И.А., Воронина А.В. // Наука и инновации в медицине. 2021. Т. 6. № 3. С. 56-62.

5. Роль металлопротеиназ в обмене белков внеклеточного матрикса эндометрия в норме и при патологии / Тихаева К.Ю., Рогова Л.Н., Ткаченко Л.В. // Проблемы репродукции. 2020. Т. 26. № 4. С. 22-29.

6. Характеристика экспрессии биомаркеров базальных клеток в эпителиоцитах предстательной железы / Смирнов А.В., Перлин Д.В., Экова М.Р., Шмидт М.В., Гуров Д.Ю., Ермилов В.В., Рогова Л.Н., Самусев Р.П., Замараев В.С., Лютая Е.Д., Хлопонин П.А., Должиков А.А. // Морфология. 2020. Т. 157. № 2-3. С. 196.

Профессор кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор

Л.Н. Рогова

Сведения верны:  
Ученый секретарь учёного совета ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России  
кандидат медицинских наук, доцент



О.С. Емельянова