

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук профессора Зиновьева Евгения Владимировича на диссертацию Гореловой Анны Андреевны «Заместительная уретропластика тканеинженерными конструкциями (экспериментальное исследование)», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 14.01.23 – урология

Актуальность избранной темы. Несмотря на большое число методов хирургической реконструкции мочеиспускательного канала при его сужениях различного генеза – врожденных, посттравматических, воспалительных и т.д., проблема заместительной уретропластики сохраняет свою актуальность. Неудовлетворительные исходы таких операций констатируются в 10-15% наблюдений. Выбор методики их осуществления остается предметом дискуссий. Учитывая высокую частоту стриктур уретры и гипоспадий, относящихся к одним из наиболее частых заболеваний мочеиспускательного канала у мужчин, разработка новых методов их лечения чрезвычайно актуальна. В последние годы в практическую хирургию и урологию внедряются методы биотехнологии, тканевой инженерии. В ряде экспериментальных и клинических исследований была показана принципиальная возможность применения и эффективность тканеинженерных конструкций, содержащих клеточный компонент, для уретропластики, однако результаты этих исследований зачастую спорны, противоречивы. Поэтому поиск оптимальных тканеинженерных конструкций и биомедицинских клеточных продуктов, способных улучшить результаты реконструктивных вмешательств на мочеиспускательном канале, является весьма актуальной задачей для здравоохранения. Целью предпринятого диссертационного исследования А.А. Гореловой явилось экспериментальное обоснование возможности применения тканеинженерных конструкций для замещения дефектов уретры. Диссертация актуальная как с научной, так и с практической точки зрения.



Научная новизна исследования состоит в том, что в рамках экспериментального исследования, с учетом современных возможностей создания тканеинженерных конструкций и опыта применения для уретропластики буккального эпителия, автором экспериментально обоснована возможность создания оригинального биомедицинского клеточного продукта с использованием биodeградируемых т.н. скаффолдов на основе поли-L-лактид-капролактона (70/30) и поли-L-лактид-гликолида (85/15), обогащенных клетками буккального эпителия, и поли-(D, L)- лактида и поликапролактона, содержащего мезенхимные стволовые клетки. В ходе исследований доказана биосовместимость и биodeградируемость таких образцов биомедицинских клеточных продуктов, которые вызывают меньшую выраженность фиброзных изменений тканей в зоне имплантации в сравнении с применяемым буккальным трансплантатом.

Значимость результатов, представленных в диссертации, для науки и практики, определяется положительными характеристиками тканеинженерных конструкций, такими как биосовместимость, поддержание просвета уретры, адекватного для физиологического мочеиспускания, меньшую выраженность фиброзных изменений тканей, позволяющих рассматривать их трансплантацию как альтернативу пластике уретры буккальным трансплантатом. Результаты исследований позволяют констатировать разработку принципиально нового биотехнологического метода уретропластики, основанного на трансплантации оригинального биомедицинского клеточного продукта, проходящего регистрацию для включения в реестр, в соответствии с вступившим в действие 180 Федеральным законом “О биомедицинских клеточных продуктах”.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертация А.А. Гореловой представляет собой научное исследование, проведенное на должном уровне, с использованием стандартных методик и анализа достаточного количества экспериментального

материала. При выполнении диссертационного исследования автор осуществлял планирование и непосредственное выполнение экспериментов, производил обобщение и оценку полученных данных. Диссертантом использовались адекватные решаемым задачам исследования методы лабораторного, а также современные методы инструментальных и морфологических исследований. Диссертация построена на проверяемых фактах, согласуется с опубликованными данными. Приведенные в диссертации экспериментальные наблюдения хорошо документированы, иллюстрированы photographиями, приведенные клинические примеры информативны и показательны. Основные выводы диссертации соответствуют целям и задачам исследования. Обработка результатов исследования проводилась с использованием общепринятых современных методов статистической обработки. Достоверность сделанных заключений подтверждается в т.ч. применением современных адекватных поставленным задачам методов статистического анализа с использованием лицензированного программного обеспечения. Объем исследований и экспериментальных наблюдений, теоретических расчетов достаточен для обоснования достоверности положений, ряд полученных результатов требует более четкого структурирования для четкого формулирования выводов диссертации.

Оценка содержания диссертации. Диссертационная работа построена по классическому принципу, состоит из цели, задач, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы исследования и оформлена согласно требований п. 30 «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», утвержденного приказом Минобрнауки России № 1093 от 10.11. 2017 г. Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста. Список литературы включает в себя 146 источников, в том числе 31 отечественный и 115 иностранных. Работа иллюстрирована 3 таблицами и 28 рисунками.

Во введении диссертационной работы А.А. Горелова справедливо подчеркивает обоснованность научно-практической проблемы хирургического лечения протяженных стриктур уретры и гипоспадий. Цель и задачи исследования, определенные автором, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представленные основные положения, выносимые на защиту не вызывают замечаний.

Обзор литературы представлен *в первой главе*. В ней отражены основные данные о реконструктивной хирургии мочеиспускательного канала. Подробно описаны материалы и клетки, входящие в состав различных тканеинженерных конструкций, изложены различные исследования, посвященные уретропластикам с применением данных композитов. Анализ представленной автором информации свидетельствует о хорошем знании изучаемого предмета и правильном выборе направления исследования.

Во второй главе представлены материалы и методы исследования. Исследование являлось двухэтапным. На первом этапе изучались механические свойства, токсичность и *in vivo* на крысах биодegradация т.н. скаффолдов. На втором этапе исследования на основе скаффолдов создавались тканеинженерные конструкции, содержащие мезенхимные стволовые клетки или клетки буккального эпителия, которые имплантировались в дефект уретры кролика. В данной главе подробно описаны схема исследования и применяемые методы. В исследовании применялись корректные методы статистической обработки данных.

Результаты исследования отражены *в третьей главе*. Механические свойства скаффолдов оценивались на первом этапе исследования, и они сопоставимы с нативной тканью уретры кролика. После подкожной имплантации крысам скаффолды биодegradировали в течение четырех недель.

На втором этапе при исследовании тканеинженерных конструкций автором доказана жизнеспособность и пролиферативная активность клеток буккального эпителия и мезенхимных клеток на поверхности применяемых скаффолдов.

По данным уретрограмм, проходимость уретры была сохранена во всех группах, не определялось участков сужений. При макроскопической оценки зоны имплантации в группах, где были имплантированы тканеинженерные конструкции, определялось восстановление просвета уретры, в нескольких случаях в отдаленном послеоперационном периоде наблюдения зона имплантации не визуализировалась.

По данным морфологического исследования, в группах имплантации тканеинженерных конструкций происходило восстановление эпителиального слоя, а наибольший фиброз тканей определялся после пластики уретры буккальным трансплантатом. При конфокальной микроскопии определялась солокализация меченных наночастицами мезенхимных стволовых клеток/клеток буккального эпителия с окрашенным цитокератином уротелием, что свидетельствует о возможной дифференцировке этих клеток в неоуротелиальные.

В заключении автор кратко представила основное содержание и наиболее значимые результаты исследования. *Выводы* соответствуют поставленным задачам, обоснованы материалами работы и логично вытекают из результатов диссертационного исследования. Практические результаты ясны и воспроизводимы, однако могут быть расширены и дополнены.

По результатам научного исследования опубликовано 14 печатных работ, в том числе четыре - в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Материалы диссертационной работы представлены общественности на представительных международных и всероссийских научных мероприятиях.

Вопросы и замечания по диссертации: Диссертация наглядно оформлена в соответствии с текущими требованиями, написана научным языком. Работа дополнена содержательными таблицами и рисунками, которые

значительно улучшают восприятие материала. Автореферат диссертации в полной мере отражает ее содержание. В автореферате обоснованы выводы, сделанные соискателем, дана обобщающая характеристика работы. При ее изучении возник ряд вопросов:

1. Какие основные преимущества и недостатки имеют конструкции из поли-L,D-лактида/поликапролактона и поли-L-лактид-капролактона/поли-L-лактид-гликолида? Чем обусловлен выбор именно таких комбинаций полимера?

2. Как Вы можете объяснить сроки биодеградации ваших матриц из поли-L,D-лактида и поликапролактона спустя месяц, если по литературным данным, поли-L,D-лактид деградирует до 12 месяцев, а поликапролактон - до 3 лет?

3. Почему выполнение урографии и результаты ее оценки выполнялись после эвтаназии животных? Адекватны ли полученные результаты?

4. Мезенхимальные стволовые клетки при введении оказывают выраженный паракринный эффект и стимулируют ангиогенез. По данным таблицы 3, в Ваших наблюдениях толщина слизистой и количество сосудов в зоне их трансплантации в составе разрабатываемой конструкции меньше, чем при переносе буккального трансплантата. В чем причина? Толщина сопоставима?

5. На странице 52 в рисунке 7 указание на культивирование стволовых клеток человека следует признать опечаткой.

Заключение

Диссертационная работа Гореловой Анны Андреевны «Заместительная уретропластика тканеинженерными конструкциями (экспериментальное исследование)», выполненная под научным руководством д.м.н., профессора Яблонского Петра Казимировича и к.м.н. Муравьева Александра Николаевича и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 14.01.23 – урология по своему

методологическому уровню, содержанию, актуальности, полноте поставленных и решенных задач, их научной новизне и несомненной практической и теоретической значимости является оригинальной и законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований осуществлено решение актуальной для хирургии и урологии научной задачи по улучшению результатов реконструктивных вмешательств на уретре в эксперименте с применением новых тканеинженерных конструкций.

Диссертационная работа Гореловой Анны Андреевны полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 14.01.17 – хирургия и 14.01.23 – урология.

Руководитель отдела термических поражений
ГБУ "Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе"
доктор медицинских наук профессор

Е.В. Зиновьев

26 ноября 2020 г.



ГБУ "Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе"

тел: +7 (812) 774-86-75

офиц. сайт: info@emergency.spb.ru

контактные данные оппонента:

Тел. моб. +7-960-283-63-92

E. mail: evz@list.ru

Подпись заверяю

Учёный секретарь
ГБУ "Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе"
доктор медицинских наук доцент

И.М. Барсукова

26 ноября 2020 г.



192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит.А