

ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующей лабораторией доклинических исследований ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. Логинава Департамента здравоохранения города Москвы», доктора медицинских наук Трубицыной Ирины Евгеньевны на диссертацию Клабукова Ильи Дмитриевича «Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология (биологические науки)

Механизмы развития послеоперационных осложнений, возникающих при имплантации конструкций из нативных или искусственных материалов, представляет собой актуальную область современной медицины и биологии. Локальные повреждения являются распространенными заболеваниями. Протекают с воспалительной и воспалительно-регенераторной реакцией, которую постоянно изучают патофизиологи, морфологи и биологи. Сделано много, но не выяснены механизмы, влияющие на смену фаз воспалительной реакции, почему происходит затягивание некоторых фаз и образование рубцов. С учетом этого, необходимо отметить смелость Ильи Дмитриевича, который используя современные методы клеточной терапии пытается восстановить структуру поврежденных желчных протоков. Особенно остро данная проблема возникает при использовании тканеинженерных конструкций (ТИК) на основе синтетических материалов, когда риски возникновения ранних и поздних послеоперационных осложнений не могут быть просчитаны заранее. В связи с этим получение биологически и физиологически совместимых ТИК представляет собой несомненный интерес для современной патологической физиологии, гепатопанкреатобилиарной хирургии и регенеративной медицины.

Актуальность работы несомненна и подтверждается мировыми статистическими данными о возникновении послеоперационных осложнений при выполнении холецистэктомий, трансплантаций печени и хирургическом лечении холангиокарцином. Высокотехнологичное хирургическое лечение требует эффективной коррекции с использованием материалов и методов нового поколения. Диссертационное исследование Клабукова И.Д.

посвящено совершенствованию методов создания жизнеспособных ТИК, предназначенных для восстановления поврежденных желчных путей.

Научная новизна полученных результатов

Представленная работа предлагает решение проблемы создания многослойной ТИК, которые можно использовать при выполнении неосложненных хирургических операций по восстановлению нормального желчотока, нарушенного при пересечении желчных протоков. Полученные автором результаты не имеют аналогов. Разработаны методы совершенствования ТИК желчного протока, созданной на основе трубчатого многослойного матрикса из композитных полимеров. Создана модель многослойного каркаса с клетками для получения функционирующего трансплантата. ТИК сделана с двухклеточным покрытием, в которой внутренняя поверхность заселена эпителиальными клетками желчного протока (ЭКЖП), а внешняя – мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками костного мозга (ММСК КМ). Предложенная модель имеет строение соответствующее структуре нативного желчного протока, что способствует восстановлению и длительному поддержанию дренажной функции. Впервые использованы биосовместимые и биодеградируемые материалы для изготовления ТИК с включением в структуру волокон эмульсии с плазмидой, содержащей ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGF165), и эпидермального фактора роста (EGF), обеспечивая витализацию каркаса и длительность дренажной функции желчного протока. Методом биосенсорного анализа в режиме реального времени на клеточном анализаторе iCELLigence доказана эффективность модифицированного каркаса, способствующего пролиферации клеток. Проведена оценка биологического эффекта модификации каркаса и его имплантации лабораторным животным, у которых по мере деградации волокнистого материала каркаса происходит усиление ангиогенеза. Изучена безопасность и эффективность применения трубчатого матрикса из поликапролактона на крупном лабораторном животном (свинья) при моделировании интраоперационной травмы общего желчного протока. Таким образом, проведенные диссертантом исследования позволяют понять принципы проектирования биологически и физиологически совместимых ТИК, предназначенных для замещения поврежденных органов и тканей.

Степень достоверности результатов и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты работы опубликованы в виде статей в российских рецензируемых журналах и апробированы на всероссийских и международных конференциях. Достоверность представленной автором работы не вызывает сомнений. В работе И.Д. Клабукова были использованы четыре типа клеток и два вида лабораторных животных, современные физико-химических методы исследования, такие как конфокальная, флуоресцентная и электронная микроскопия, биосенсорный анализ в реальном времени, гистологическое и иммуногистохимическое окрашивание, в сочетании с методами клеточной биологии. Весь этот объем проведенных исследований дал возможность оценить возможность использования разработанной модели при создании ТИК.

Исследование выполнено на достаточном количестве экспериментальных животных с использованием современных и адекватных методов исследования, что позволяет не сомневаться в достоверности полученных результатов. Материал правильно сгруппирован и подвергнут современным методам статистического анализа. Использованный в работе иллюстративный материал описан подробно и корректно. Выводы соответствуют поставленным задачам и логично вытекают из результатов, полученных в данной работе. Достоверность данных представленной автором работы не вызывает сомнений.

По результатам работы сформулировано семь выводов, которые четко вытекают из описанных экспериментов, отвечают на поставленные автором задачи и представляются обоснованными. Результаты работы опубликованы в виде статей в российских рецензируемых журналах и апробированы на всероссийских и международных конференциях. Достоверность представленной автором работы не вызывает сомнений.

Общая структура и содержание диссертационной работы

Диссертация Клабукова И.Д. составлена по традиционному плану, логично построена, доступно и профессионально написана. Диссертация изложена на 205 страницах машинописного текста, представлены все необходимые по требованиям ВАК разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы» и «Список сокращений». Диссертационная работа аккуратно оформлена и хорошо иллюстрирована, содержит 67 рисунков и 11 таблиц.

Библиография включает 395 источников, из которых 66 на русском языке и 329 - на английском.

В разделе «Введение» приводится краткое введение в тему диссертационной работы, рассматривается её актуальность и перспективы, на основе чего формулируются цель и задачи исследования.

Обзор литературы большой, изложен на 52-х страницах машинописного текста, и содержит несколько разделов. В первой части обзора подробно рассмотрены проблемы восстановления нормального желчеотока поврежденных желчных путей с использованием материалов естественного и искусственного происхождения. Особенно автор подчеркнул сложность и многофакторность решаемой проблемы, обосновывая использование в работе нескольких методов создания ТИК, и, что особенно важно, предлагает способы ее решения. Второй раздел обзорной части работы посвящен конкретным проблемам при восстановлении желчных путей, рассматривая влияние материалов, васкуляризации и эпителизации конструкций различного состава на успешность восстановительных операций. Последняя часть обзора литературы рассматривает проблемы дизайна ТИК. Обзор литературы содержит всю информацию, необходимую для понимания предмета исследования и полученных автором результатов.

Раздел «Материалы и методы» изложен на 32-х страницах и содержит подробное описание использованных автором исследовательских методов и примененных материалов. Автором обоснованно отмечает, что, несмотря на обилие научных исследований по восстановлению желчных путей, применяемая в работе комбинация материалов и методов ранее использована не была.

Раздел «Результаты» на 55-ти страницах подробно описывает полученные в работе результаты, а также содержит элементы обсуждения таких результатов, как видно, в случае необходимости акцентирования внимания на конкретных числовых значениях или наблюдаемых особенностях (например, при изучении морфологии образцов).

Раздел «Обсуждение» отличается подробностью всестороннего рассмотрения полученных в работе результатов. Данный раздел объемом 19 страниц мог бы быть сокращен без ущерба для содержания работы, тем более что значительная часть промежуточного сравнения результатов обсуждена автором в разделе «Результаты». Выполненное автором подробное рассмотрение полученных в работе результатов с учетом актуальных

проблем и достижений тканевой инженерии позволяет критично оценить результаты работы в целом, и сделать обоснованное суждение по «Заключению» и «Выводам» диссертационного исследования.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы

Диссертантом сделан вклад в фундаментальную науку, являющуюся основой клеточных технологий. Работа И.Д. Клабукова представляет интерес для современной восстановительной регенеративной хирургии желчных путей, благодаря использованию комбинированных модифицированных материалов, которые стимулируют восстановительную регенерацию. Диссертантом отработана методика функционального проектирования ТИК. Данная работа это первая ступень для создания в ближайшем будущем конструкций и моделей органов и тканей человека. Кроме того, полученные в рамках работы патенты по оригинальным способам создания ТИК и их заселения клетками могут найти широкое применение в развивающейся области тканевой инженерии. Представленную работу можно рассматривать как предварительный этап *in vitro* и *in vivo* исследований на пути создания тканеинженерной конструкции-заготовки трубчатого органа для использования на доклиническом этапе изучения возможности коррекции травматических состояний и послеоперационных осложнений при выполнении гепатобилиарных хирургических операций.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов

Полученные автором данные опубликованы в 17 работах, в том числе 6 работ в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ и входящих в базу данных Scopus («Вестник Российской академии медицинских наук», «Гены и клетки», «Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология» и «Патологическая физиология и экспериментальная терапия»), 8 работ представляют собой тезисы докладов на российских и международных конференциях, а еще 3 работы представлены полученными в рамках работы патентами на изобретения и полезную модель.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Клабукова И.Д. полностью соответствуют основным положениям диссертации, в нем отражены актуальность темы,

научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, основные результаты, их обсуждение и выводы. Диссертация написана хорошим литературным языком, четко структурирована и очень хорошо проиллюстрирована.

Соответствие диссертации научной специальности

Научные положения диссертации несомненно содержат научную новизну для области патологической физиологии, а ее содержание полностью соответствует паспорту специальности 14.03.03 – «Патологическая физиология», конкретно п.8 «Анализ взаимоотношений общего и частного, части и целого, единства и борьбы противоположностей в динамике развития патологического процесса» и п.10 «Разработка новых путей этиологической, патогенетической и саногенетической терапии с учетом взаимодействия терапевтических факторов с защитно-приспособительными механизмами организма» паспорта специальности «Патологическая физиология». Автором проведена декомпозиция сложной задачи создания биологически и физиологически совместимой конструкции желчного протока на отдельные подзадачи, каждая из которых по отдельности решена физико-химическими методами, методами клеточной биологии или постановкой хирургического эксперимента. Использование витализированной конструкции со специально подобранными свойствами для стимулирования восстановительных процессов в организме представляет собой новый путь саногенетической терапии, основанной на взаимодействии физико-химических факторов имплантата с защитно-приспособительными механизмами организма.

Замечания и вопросы по диссертации

Основные замечания относятся к опечаткам и оформлению диссертационной работы. Так, на странице 114 ошибка в нумерации рисунков: приводится ссылка на «Рис. 3.12», хотя по смыслу текста должна быть ссылка на рисунок «3.9». На стр. 148 на рисунке 3.38 выявляется ошибка в обозначениях на рисунке: в сведениях о сроках имплантации образцов приводится «15 сут», хотя исходя из подписи рисунка и общего смысла текста должно быть «16 сут». На стр. 9 опечатка в слове «усовершенствованный» - должно быть «усовершенствованный». На стр. 60 описка в словосочетании «отмечалось снижения» - должно быть «отмечалось снижение». В сокращениях отсутствует часто используемое в работе сокращение «ТИК», а также

присутствует оригинальная расшифровка PBS как «фосфатно-солевой буфер».

Однако данные замечания не принципиальны, а их исправление лишь улучшило бы восприятие работы.

Заключение

Работа Клабукова Ильи Дмитриевича посвящена совершенствованию методов создания витализированных тканеинженерных конструкций, предназначенных для восстановления поврежденных желчных путей. Актуальность работы подтверждается мировой статистикой возникновения послеоперационных билиарных осложнений при выполнении холецистэктомий, трансплантации печени и хирургического лечения холангиокарцином, которые требуют эффективной коррекции. Диссертация Клабукова И.Д. «Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей» является законченной квалификационной научной работой, в которой на основании проведенных исследований была решена важная научно-практическая задача создания жизнеспособных ТИК, которые можно использовать при восстановлении поврежденных желчных путей.

Все сформулированные автором выводы обоснованы и логично следуют из полученных результатов. Оформление работы отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

По своей актуальности, научной новизне и практическому значению полученных результатов диссертация И.Д. Клабукова «Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей» полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, утвержденным постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016), а её автор Клабуков Илья Дмитриевич

заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

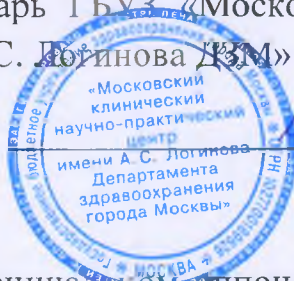
Заведующий лабораторией доклинических исследований ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова ДЗМ», доктор медицинских наук (14.00.16 - Патологическая физиология, 14.00.36 – Аллергология и иммунология)

« 26 » ноября 2018г.  / Трубицына И.Е. /

Подпись официального оппонента, д.м.н. И.Е. Трубицыной «заверяю»

Ученый секретарь ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова ДЗМ»

к.м.н.



 / Косачева Т.А./

Сведения об официальном оппоненте: Трубицына Ирина Евгеньевна, д.м.н. заведующая лабораторией доклинических исследований

Место работы: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский Клинический научно-практический Центр имени А.С. Логинова» Департамента здравоохранения города Москвы

Адрес учреждения: 111123 г. Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86, Тел. 8 (495) 304-00-70, E-mail: ie.trubitsyna@gmail.com