

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора кафедры госпитальной хирургии № 2 им. акад. Ф. Г. Углова ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Гавриленкова Владимира Ивановича на диссертационное исследование Лаврешина Алексея Владимировича «Тканевая инженерия корня аорты человека методом децеллюляризации», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность работы. В настоящее время в мировой клинической практике прослеживается тенденция к более широкому применению биологических заменителей клапанов сердца. Эта тенденция обусловлена значительным количеством тромбоэмболических и геморрагических осложнений при имплантации механических протезов, нередко низким качеством жизни этих больных в отдаленные сроки, а также разработкой новых моделей и технологий изготовления биологических заменителей. К таким технологиям относится тканевая инженерия клапанов сердца. Идея удалить клеточные структуры из гомографта или ксенографта, а затем заселить его аутологичными клетками пациента с последующей имплантацией, уникальна. Реализации этой идеи позволит создать длительно функционирующий и не требующий антикоагулянтной терапии заменитель клапана сердца и, вполне возможно, обеспечивающий рост такого гомографта у ребенка, что позволит избежать развития протезно-пациентного несоответствия и повторной операции.

За рубежом разрабатывают децеллюлированные аортальные, пульмональные и митральные гомографты (аллогграфты). В отдельных работах приводят данные о первых доклинических и клинических исследованиях. Представлены первые ближайшие и среднесрочные

результаты применения децеллюлированных аортальных и пульмональных гомографтов у взрослых и детей. Эти результаты обнадеживают.

Продолжается поиск оптимальных протоколов удаления клеточных элементов гомографтов, разработки технологий клеточного заселения децеллюлированных графтов аутологичными клетками реципиента. Вместе с тем по этой проблеме остается больше вопросов, чем полученных ответов. Отрадно, что в нашей стране и нашем городе проводят подобные исследования. Наверно, это первая диссертация по тканевой инженерии клапанов сердца в нашей стране. Автор работы заслуживает всяческого одобрения за выбор такой сложной темы экспериментального исследования на стыке нескольких специальностей.

Таким образом, актуальность темы исследования не вызывает сомнений.

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

Обоснованность и достоверность полученных в диссертации результатов и сделанных на их основе выводов и практических рекомендаций подтверждается рядом моментов. Прежде всего, автором показаны хорошие знания современных подходов и тенденций в разработке децеллюлированных гомографтов. Автором построен качественный дизайн исследования в соответствии с целью и задачами исследования, использован комплекс современных биомеханических, молекулярно-генетических и морфологических методов исследования. Проведен тщательный статистический анализ полученных данных. Подробное изучение свойств децеллюляризированного аортального гомографта и его микроструктуры, большой объем наглядного иллюстративного материала делает выводы автора аргументированными и понятными.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна работы заключается в разработке принципиально нового типа заменителя клапана аорты посредством тканевой инженерии с использованием аортального гомографта в качестве источника матрицы. Для этого разработан новый эффективный протокол децеллюляризации аортальных гомографтов, проведена его комплексная оценка биомеханических и морфологических свойств относительно нативного корня аорты. Для проведения процесса заселения матрицы клапана стволовыми клетками человека разработан оригинальный биореактор. Определены оптимальные условия заселения и культивирования мультипотентных стволовых клеток на бесклеточной матрице корня аорты в динамических условиях разработанного автором биореактора.

Практическая ценность работы

Результаты проведенной автором работы могут служить основой для изготовления тканемодифицированных заменителей клапанов сердца с последующим проведением доклинических, а в перспективе и клинических исследований этих графтов.

Разработанная автором технология изготовления бесклеточной матрицы клапана сердца с последующим заселением аутологичными стволовыми клетками в условиях динамического режима биореактора представляется весьма перспективной. Подобного рода модифицированные графты в дальнейшем могут быть использованы для более эффективного хирургического лечения пороков клапанов сердца у взрослых и детей. Полученные в диссертации результаты могут быть использованы также в учебном процессе последипломного образования по сердечно-сосудистой хирургии и кардиологии.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на проблемной комиссии института сердечно-сосудистой хирургии и института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, материалы диссертации изложены в 5 докладах. Основные результаты диссертации опубликованы в 10 печатных работах, в том числе в 5 работах в журналах из списка печатных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией. Результаты диссертации внедрены в лекции и практические занятия по клинической кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России и ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана по классическому варианту, текст изложен на 102 страницах, состоит из введения, обзора литературы (1 глава), 2 глав (2 и 3 главы) собственных исследований, обсуждения полученных результатов (4 глава), выводов, указателя литературы, состоящего из 176 источников, представленных преимущественно зарубежными авторами (172).

Оценка содержания и оформления.

Во введении автор аргументированно обосновывает необходимость создания нового типа аортальных протезов, основываясь на данных современной, преимущественно, зарубежной литературы. Из этого раздела работы логично вытекают цели и задачи исследования.

В первой главе (обзор литературы) автор демонстрирует исторические аспекты развития тканевой инженерии клапанов сердца, анализирует различные точки зрения на текущую проблему и способы их решения. Автором описаны различные подходы к разработке тканеинженерных кондуитов, их структурные и биомеханические особенности в сравнении с

нативным корнем аорты, представлен подробный анализ видов стволовых клеток человека и способов их заселения на матрикс. В заключение этого раздела автор логически подходит к необходимости разработки аортального гомографта методами тканевой инженерии, как наиболее перспективного заменителя клапана сердца.

Вторая глава посвящена подробному описанию материалов и методов исследования, использованных в данной работе. Тщательно описаны все опробованные протоколы децеллюляризации, методы гистологической и биомеханической оценки тканемодифицированного аортального гомографта. Отдельное внимание уделено разработке оригинального биореактора для проведения процесса заселения бесклеточной матрицы клапана аорты стволовыми клетками. Подробно описана его конструкция. Показана также возможность и целесообразность проведения этапа децеллюляризации в динамических условиях биореактора.

Третья глава диссертации посвящена результатам проведенного исследования. Представлено большое количество иллюстраций в виде микрофотографий, графического отображения проведенных биомеханических исследований тканемодифицированных створок клапана и стенки восходящей аорты в сравнении с нативными тканями. Кроме того, автор демонстрирует и существенные микроструктурные отличия децеллюляризованных аортальных клапанов – сохранность структуры экстрацеллюлярного матрикса и его репопуляция стволовыми клетками.

В четвертой главе, посвященной обсуждению результатов, дается подробное теоретическое обоснование полученных результатов. Особое внимание уделяется поиску единого протокола децеллюляризации цельного корня аорты, так как это значительно облегчило бы хирургическую имплантацию тканемодифицированных кондуитов в будущем. Автор обсуждает вопрос необходимости и целесообразности репопуляции

стволовыми клетками тканеинженерных конструкций клапана аорты, анализирует полученные результаты биомеханических исследований, отмечая сохранную устойчивость децеллюляризованных структур корня аорты к аксиальным нагрузкам.

Выводы и основные положения диссертации четко сформулированы и обоснованы, а результаты проведенных исследований соответствуют поставленным в работе задачам.

Диссертация легко читается, материалы изложены четко и конкретно, представленные иллюстрации информативны, разделы работы логично связаны между собой. Встречаются отдельные ошибки, опечатки и неудачные выражения типа « это явление является..». Однако, это не снижает достоинства работы. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по поводу проведенного исследования и представления его результатов в Диссертационный Совет нет. Однако, в порядке дискуссии два вопроса.

1. В диссертации и автореферате подчеркивается оригинальность и эффективность применения разработанного биореактора. Проводился ли патентный поиск и его анализ по признакам охраноспособности предлагаемого биореактора?
2. В диссертации и автореферате отсутствуют практические рекомендации. Означает ли это, что Ваша работа имеет только теоретическое значение? Неужели во всем разработанном протоколе децеллюляризации и рецеллюляризации гомографта нет ничего полезного для практики изготовления биологических заменителей клапанов сердца?

Заключение

Диссертационное исследование Лаврешина Алексея Владимировича «Тканевая инженерия корня аорты человека методом децеллюляризации», выполненное под руководством кандидата медицинских наук Курапеева Дмитрия Ильича и доктора медицинских наук Анисимова Сергея Владимировича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение задачи по искусственному замещению клапанов сердца, имеющей существенное значение для сердечно-сосудистой хирургии и клеточной биологии, цитологии, гистологии. По актуальности, научной новизне, практическому значению по разработке и изготовлению нового заменителя клапана сердца, представленным результатам выполненная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология и гистология.

Профессор кафедры госпитальной хирургии № 2

им. акад. Ф. Г. Углова ФГБОУ ВО

«Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени

академика И. П. Павлова» Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор

20 октября 2016 года



В. И. Гавриленков

Гавриленков В.И.

Подпись руки заверяю:	<i>Гавриленков В.И.</i>
Спец. по кадрам	<i>М.С. Лаврешина</i>
«20»	20 2016г.