

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Лаврешина Алексея Владимировича «Тканевая инженерия корня аорты человека методом децеллюляризации» (Федеральное государственное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им.В.А.Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, 2016), представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 0.3.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы диссертации и ее связь с соответствующими отраслями науки и практики

Значимость сердечно-сосудистой патологии в медицине нельзя переоценить. Нельзя ее переоценить и в сердечно-сосудистой хирургии, которая на наших глазах прошла путь от операций на обескровленном сердце до операций с использованием тканеинженерной техники.

Поэтому современные кардиохирурги и сосудистые хирурги компетентны также в морфологии и цитофизиологии сердца и сосудов, в трансплантологии и иммунологии.

Создание клапанов сердца и аорты, замещение поврежденных оболочек сердца, в частности, миокарда и аорты тканеинженерными протезами – насущная задача. Диссертация А.В.Лаврешина является одним из таких примеров.

Степень обоснованности основных положений диссертации, выводов и рекомендаций и их достоверность

Автором вынесены на защиту 5 основных положений. В первом из них отражен метод получения секционного материала корня аорты и ее клапанов для последующей его децеллюляризации. Следует отметить, что это – не простой метод. Чтобы оценить пригодность материала, он применил анатомическую препаровку, дал патологоанатомическую оценку его состояния, в частности, степень выраженности атеросклеротических изменений и др., а также отсутствие в анамнезе покойного целого ряда заболеваний, исключающих возможность использования секционного материала. Не менее важно было сохранить полученный материал - гомографт, оценить его биомеханические прочностные свойства, столь важные для получения полноценной бесклеточной волокнистой матрицы, используемой затем для тканеинженерного протеза. Автор выполнил эти условия как технически, так и методически безупречно, наглядно проиллюстрировав цветными микрофотограммами все этапы этой работы и полученные им результаты.

Второе положение, выносимое на защиту, касается непосредственно метода децеллю-

ляризации клапанов аорты и стенки ее корня. Хочу подчеркнуть, что автор внес определенный вклад в разработку данного метода. Для этого ему пришлось провести немало экспериментов, чтобы подобрать нужные детергенты, их оптимальную концентрацию, температуру и время воздействия. В результате ему удалось получить бесклеточную матрицу, очищенную от клеточного дебриса, не вызывающую реакций клеточного и гуморального иммунитета. Он убедительно доказал это с помощью обзорных гистохимических и иммуногистохимических методов исследования, о чем свидетельствуют приведенные им цветные микрофотографии высокого качества. Сам метод децеллюляризации не нов. Сегодня известно более 25 способов децеллюляризации клапанов и стенки сердца, сосудистой стенки и ее клапанов, однако диссертант настолько модифицировал этот метод, что можно говорить о новом современном способе поэтапной децеллюляризации, включающем 3 этапа: обработка корня аорты растворами детергентов с целью разрушения плотных межклеточных контактов и самих клеток, образующих аортальные клапаны и корень аорты; разрушение ДНП и РНП и их фрагментов с помощью дезоксирибонуклеазы и рибонуклеазы; отмывание реагентов и клеточного дебриса. Эти «процедуры» гасят реакции клеточного и гуморального иммунитета трансплантируемых матриц и при последующем их заселении стволовыми клетками увеличивают срок службы протеза.

Третье положение посвящено оценке прочностных механических свойств полученной автором матрицы с применением биомеханических методов ее исследования: определение модуля упругости, степени напряжения, прочности шва стенки аорты. Полученные биофизические показатели результатов исследования обработаны статистически и показана высокая степень их достоверности.

Четвертое положение, выносимое на защиту, отражает результаты заселения бесклеточной матрицы корня аорты стволовыми клетками человека, выделенными из красного костного мозга и жировой ткани. Для этого диссертанту пришлось опять экспериментировать, чтобы установить оптимальную концентрацию стволовых клеток, время их инкубации, состав питательной среды, продолжительность и скорость центрифугирования и т.д. Следует отметить, что рецеллюляризация – это более сложный процесс, чем децеллюляризация. Автор самокритично отмечает, что ему не удалось получить сразу матрицы створки клапана и стенки аорты, полностью лишенные клеток, в частности, в составе средней оболочки сосуда, поскольку условия микросреды в используемых обычных планшетах и инкубаторах для культивирования клеток были не адекватны физиологическим. Поэтому монослой клеточной выстилки матрицы, соответствующий эндотелию, отличался от нативной ткани. Необходимо было создать динамические условия, близкие к физиологическим. Для этого требовалось создание специального биореактора.

Пятое положение, выносимое на защиту, посвящено разработке такого биореактора, который, по мнению диссертанта, «является устройством крайне незамысловатой структуры» (цит., стр.89). На самом же деле данный биореактор является современным аппаратом, во многом усовершенствованным и приспособленным автором для обеспечения оптимального режима де- и рецеллюляризации гомографта, позволяющего создать динамические условия пульсирующей в нем жидкости, близкие к физиоло-

гическим.

Научно-теоретическая и практическая значимость полученных результатов, их новизна

Разработанный и предложенный диссертантом метод де- и рецеллюляризации корня аорты и создания тканеинженерных протезов клапанов аорты нужен практической кардиохирургии. Однако это исследование имеет большое научно-техническое значение, ибо оно вносит определенный вклад в проблему межклеточных взаимоотношений и взаимодействия клеток с межклеточным веществом – волокнистым матриксом. Данное исследование прокладывает путь систематического изучения цитодифференцировки заселенной стволовыми клетками матрицы и с новых позиций освещает проблему физиологической и репаративной регенерации и пластичности сосудистой стенки.

Дискуссионные вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по представленному фактическому материалу, теоретическим обобщениям и выводам, у меня нет. Однако есть ряд замечаний редакционного, номенклатурного и технического характера:

- в обзоре литературы автор использует выражение «клапан должен обладать способностью ... к росту» (цит., стр.6) вместо «способностью к гистогенезу»;
- в обзоре литературы отмечено: «создание матрицы ... является критичным этапом тканевой инженерии» (цит., стр.15) вместо «критическим этапом»;
- применены не номенклатурные гистохимические термины «эластиновые волокна» (стр.27) вместо «эластические», «полигликолевая кислота» (стр.27) вместо «полигликолиевая», «гладкомышечные волокна» (стр.71) вместо «гладкомышечные клетки», «меди аорты» (стр. 80) вместо «медии», «ДНК и РНК» (стр.84) вместо «ДНП и РНП».

Заключение

Диссертация Лаврешина Алексея Владимировича «Тканевая инженерия корня аорты человека методом децеллюляризации» (Федеральное государственное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им.В.А.Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, 2016) является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, в которой содержится решение важной задачи для теории и практики кардиохирургии – получен гомографт корня аорты человека и бесклеточная волокнистая матрица, применяемая в качестве тканеинженерного протеза. Она со-

ответствует специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 0.3.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а также отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Официальный оппонент

профессор кафедры морфологии человека
ФГБОУ ВО «Северо-Западный
государственный медицинский университет
имени И.И.Мечникова» Минздрава России
доктор медицинских наук

Верин Владимир Константинович

27 октября 2016 г.

Подпись официального оппонента профессора В.К.Верина

«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Северо-Западный
государственный медицинский университет
имени И.И.Мечникова» Минздрава России
доктор медицинских наук

С.А.Артюшкин

