

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертации Насрединова Артёма Сергеевича на тему: «Тканевая инженерия кровеносных сосудов малого калибра на основе децеллюляризированной артерии пуповины человека», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки)

Актуальность темы исследования: Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смерти во всем мире. Атеросклеротическое поражение сосудов вызывает образование под интимальным слоем бляшек, которые сокращают площадь поперечного сечения просвета сосудов, приводя к снижению притока крови к тканям, расположенным ниже зоны поражения. В настоящее время эффективной методикой оперативного восстановления кровотока в стенозированной или окклюзированной артерии является операция артериального шунтирования или протезирования с использованием сосудистых протезов. Синтетические протезы не применяют для шунтирования сосудов малого диаметра (внутренний диаметр < 5 мм), так как они не обеспечивают долгосрочной проходимости. Реваскуляризация периферических или коронарных сосудов выполняют, как правило, аутооттрансплантатами (аутовена и аутоартерия). Однако, использование этих протезов связано с необходимостью проведения дополнительных хирургических процедур с увеличением риска и материальных затрат. Кроме того, аутовены, несмотря на артериализацию стенок после трансплантации, не отличаются адекватными вазомоторными свойствами, склонны к тромбированию и аневризматическому расширению.

Тканевая сосудистая инженерия является перспективным подходом в преодолении проблем, связанных с использованием аутооттрансплантатов и синтетических протезов. В настоящее время одним из многообещающих направлений в области тканевой инженерии сосудов малого диаметра является использование децеллюляризированных ксенососудов для создания биоинженерных сосудистых трансплантатов. Этот метод имеет определенные преимущества перед использованием биodeградируемых синтетических полимеров для создания каркаса сосудистых трансплантатов, но остаются

вопросы, связанные с поиском подходящих донорских сосудов для децеллюляризации и оптимального способа удаления клеток из сосудистой стенки. Неоднозначны также необходимость предварительного заселения бесклеточных коллагеновых графтов клетками реципиента перед имплантацией и источник этих клеток.

Таким образом, актуальность темы, которой посвящена работа А.С. Насрединова, сомнений не вызывает, а ее решение имеет большое медико-социальное значение.

Общая оценка работы: Диссертация написана в классическом стиле, оформление соответствует ГОСТ Р 7.0.11-2011. Материалы изложены на 114 страницах машинописного текста и состоят из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, собственных результатов, их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 184 источника: в том числе 13 отечественных и 171 иностранных. Работа проиллюстрирована 44 рисунками и 3 таблицами.

Во введении автором приведены сведения об актуальности данного исследования, сформулированы цель, задачи и положения, выносимые на защиту, кроме того, показана новизна исследования, а также теоретическая и практическая значимости работы.

Обзор литературы отражает современные представления и подходы к созданию заменителей сосудов малого диаметра из различных биосовместимых материалов, способов заселения клеток на носитель, а также источники этих клеток к привязке к конкретным исследованиям. Кроме того, освещен вопрос применения биореакторов в тканевой инженерии кровеносных сосудов. Бесспорно, что А.С. Насрединов хорошо знаком с современными публикациями в данной области (в основном на английском языке) и свободно ориентируется в вопросах тканевой инженерии кровеносных сосудов.

Диссертант разработал способ создания кровеносного сосуда малого диаметра (3-4 мм), который по своим морфологическим и механическим свойствам был бы идентичен нативной артерии. В качестве основы для будущего сосуда была использована артерия пуповины человека, лишенная

клеточного состава. Использование этих сосудов для поставленной цели является оригинальным и крайне интересным. Благодаря таким необходимым качествам как доступность материала, подходящие размеры и морфологические свойства, они действительно могут стать подходящей основой для создания искусственных графтов малого диаметра. Качеству децеллюляризации исходных сосудов было уделено большое внимание на первом этапе работы, что подтверждено достаточным количеством морфологических, гистологических, биомеханических и других исследований. Приоритет способа децеллюляризации принадлежит автору, что подтверждено получением патента на изобретение РФ № 2504334.

Насрединовым А.С. проделан большой объем экспериментальной работы по получению коллагеновых матриц артерий и заселению их мезенхимными стволовыми клетками крыс, для чего был разработан оригинальный проточный биореактор и подобраны оптимальные параметры культивирования, в частности плотность посева, объем клеточной суспензии, длительность инкубирования и скорость перфузии.

Выполнена имплантация готовых тканеинженерных сосудов в эксперименте. Убедительно доказано, что использование заселенных мезенхимными стволовыми клетками децеллюляризованных артерий пуповины человека позволяет добиться высокого уровня проходимости сосудов, близкой к таковой для аутологичных артерий. Гистологические и иммуногистохимические исследования показали, что в стенке имплантированных графтов через 30 суток после имплантации определяются дифференцированные эндотелиальные и гладкомышечные клетки. Представляет интерес оценка источника этих клеток - происходят ли они из клеток, заселивших сосуды в биореакторе в течение 5 суток, или происходят из клеток крови.

В целом обращает на себя внимание комплексность и законченность проведенной диссертационной работы. Формулировка цели исследования является грамотной, поставленные задачи адекватны цели. Использованные методы и материалы исследования современны и соответствуют поставленным

задачам.

Обоснованность, достоверность и новизна основных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации:

Достоверность полученных результатов подтверждена достаточным объемом экспериментального материала, неоднократными повторениями испытаний *in vitro* и проверкой полученных результатов *in vivo*. Использован широкий спектр современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Количество наблюдений в сравниваемых группах является достаточным для получения статистически значимых результатов. Проводен подробный анализ полученных результатов с привлечением литературы, что, несомненно, повышает ценность работы и говорит об эрудированности автора. Выводы работы аргументированы и логично вытекают из представленных результатов.

Оригинальность диссертационной работы А.С. Насрединова заключается в том, что:

- 1) Разработан оригинальный способ децеллюляризации артерий пуповины человека комбинированным детергентно-ферментным способом, патент РФ на изобретение №2504334.
- 2) Определена оптимальная плотность посева на децеллюляризованные артерии пуповины мезенхимных стволовых клеток и необходимая длительность их культивирования *in vitro* в проточном биореакторе оригинальной конструкции.
- 3) Оценена проходимость полученных тканеинженерных кровеносных сосудов в экспериментах *in vivo*.

Таким образом, была показана возможность создания тканеинженерного кровеносного сосуда на основе децеллюляризованной артерии пуповины, заселенного мезенхимными стволовыми клетками, с высоким уровнем проходимости в экспериментах *in vivo*. Представленные сведения о появлении в искусственном сосуде после имплантации дифференцированных эндотелиальных и гладкомышечных клеток, несомненно, вносит ценный вклад в расширение имеющихся представлений о динамике клеточного состава тканеинженерных графтов *in vivo*.

Продуманный дизайн исследования и большой объем качественной экспериментальной работы позволили автору получить результаты, достоверность которых не вызывает сомнений. Выводы диссертации убедительно обоснованы и логично вытекают из полученных результатов.

Теоретическая и практическая ценность результатов: автором была разработана методика децеллюляризации артерий пуповины человека, которая может быть использована для получения неиммуногенного внеклеточного матрикса сосудов малого диаметра с сохраненными механическими параметрами длиной до 50 см. Кроме того, для удобства использования материала была доказана возможность длительного хранения полученных матриксов в охлажденном фосфатно-солевом буферном растворе без потери их свойств. Разработанный оригинальный способ заселения децеллюляризованных артерий живыми клетками в биореакторе позволил получить готовые к использованию тканеинженерные кровеносные сосуды, которые могут стать альтернативой используемым в настоящее время материалам в реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии. Эти сосуды необходимы для таких распространенных операций как аорто-коронарное шунтирование, реваскуляризация артерий нижних конечностей, создание артериовенозных фистул для гемодиализа.

Основные положения диссертации и выводы диссертации обсуждены на региональных и всероссийских конференциях, отражены в автореферате и изложены в 11 печатных работах, 5 из которых являются полнотекстовыми статьями в журналах, рекомендованных для публикации результатов диссертационных работ, и 1 патент.

Все сказанное позволяет высоко оценить диссертационную работу А.С. Насрединова. Принципиальных замечаний нет.

Автореферат: содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Насрединова Артёма Сергеевича

на тему «Тканевая инженерия кровеносных сосудов малого калибра на основе децеллюляризованной артерии пуповины человека», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора В.Н. Вавилова и доктора медицинских наук С.В. Анисимова, является законченной научно-исследовательской квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научно-практическая задача формирования методами тканевой инженерии протеза кровеносного сосуда, который по своим морфологическим и механическим свойствам идентичен нативной артерии. Совокупность полученных автором данных имеет существенное значение для сердечно-сосудистой хирургии, трансплантологии, гистологии и клеточных технологий.

Диссертационная работа А.С. Насрединова соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а её автору следует присудить искомую степень по специальностям 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия и 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Майбородин Игорь Валентинович
доктор медицинских наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Институт химической
биологии и фундаментальной медицины»
Сибирского отделения Российской академии
наук; 630090, г. Новосибирск, пр. ак.
Лаврентьева, 8; тел. 8 (383) 363-51-50;
e-mail: niboch@niboch.nsc.ru;
<http://www.niboch.nsc.ru>, лаборатория стволовой
клетки, главный научный сотрудник

« 21 » 07 2016 года

