

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по науке и  
международным связям

ГБУЗ МО МОНИКИ

им. М.Ф. Владимирского

д.м.н., профессор

Какорина Е.П.

« 26 » сентября 2021г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» о научно-практической значимости диссертации *Свистушкина Михаила Валерьевича* на тему «*Экспериментальное обоснование применения мезенхимных стромальных клеток в лечении рубцовых повреждений голосового отдела гортани*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности *14.01.03 – Болезни уха, горла и носа*.

### Актуальность исследования

Диссертация Свистушкина М.В. посвящена актуальной проблеме исследования возможностей использования мезенхимных стромальных клеток костного мозга для восстановления рубцовых повреждений голосовых складок в эксперименте *in vivo*. Рубцы голосовых складок проявляются длительным и часто необратимым нарушением голосовой функции и возникают в результате широкого спектра патологических состояний: повреждений при хирургических вмешательствах и интубации трахеи, ожогах гортани, хроническом ларингите, чрезмерных вокальных нагрузках т.д. Существующие способы лечения, целью которых является уменьшение потери воздуха при голосообразовании за счёт медиализации повреждённой

голосовой складки, восстановление её эластичности, увеличения просвета гортани при стенозе позволяют лишь частично улучшить голос у пациентов с данной патологией, что связано с невозможностью восстановления строения структуры голосовых складок необходимой для вибрации.

Новые возможности в разработке методов лечения рубцов голосовых складок открывают клиницистам технологии регенеративной медицины, в том числе клеточная терапия, что отражается в растущем числе публикаций по данной теме как в нашей стране, так и за рубежом. В ряде работ показаны положительные эффекты прогениторных клеток, имплантируемых в рану голосовых складок, которые заключаются в уменьшении общего уровня фиброза, воспаления, размера рубцов. В то же время клинические испытания на данный момент остаются единичными, что может быть связано как с формирующимся законодательством в области регенеративной медицины, так и с несоответствием качества доклинических исследований требованиям клиники. Открытыми остаются множество вопросов, касающихся выбора источника клеток, подбора клеточных носителей, влияния клеточной терапии на восстановление структуры и биомеханики голосовых складок, а также подходов к проведению доклинических исследований, которые смогут достоверно и наглядно показать клинические перспективы новых технологий. С этих позиций диссертационное исследование Свистушкина М.В. представляется необходимым и своевременным.

### **Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства**

Диссертационная работа Свистушкина Михаила Валерьевича на тему «Экспериментальное обоснование применения мезенхимных стромальных клеток в лечении рубцовых повреждений голосового отдела гортани» выполнена в полном соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры болезней уха, горла и носа института клинической медицины имени

Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Диссертационная работа Свистушкина М.В. является первым отечественным исследованием, показывающим возможности мезенхимных стромальных клеток (МСК) костного мозга в восстановлении структуры голосового отдела гортани при рубцовых повреждениях. Автором исследования впервые проведено обоснование эффективности репарации рубцовых повреждений голосового отдела гортани с помощью имплантации аутологичных и человеческих МСК в рамках одного исследования, на одной экспериментальной модели с использованием единого дизайна экспериментов. На экспериментальной модели *in vivo* впервые показаны возможности использования фибринового скаффолда – полиэтиленгликоль (ПЭГ)-фибринового геля в качестве клеточного носителя МСК костного мозга человека. В исследовании впервые дана комплексная оценка влияния МСК костного мозга на восстановление коллагеновых структур голосовых складок при рубцовых повреждениях. Впервые показана эффективность МСК костного мозга в восстановлении локальных биомеханических свойств голосовых складок при рубцовых повреждениях.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Научная значимость исследования Свистушкина М.В. прежде всего заключается в системном подходе к оценке возможностей применения МСК костного мозга клеток в восстановлении морфологических и биомеханических характеристик голосовых складок при рубцовых повреждениях в эксперименте *in vivo*.

В работе усовершенствована экспериментальная модель рубцового процесса голосовых складок кролика, заключающаяся в создании дефекта 1/3 голосовой складки до голосовой мышцы с отступом 3 мм от передней комиссуры и последующей резекцией рубца через 3 месяца, показана её воспроизводимость и возможность визуально и тактильно идентифицировать рубец, образующийся на месте с дефекта с данными параметрами.

В исследовании определены характеристики клеточного носителя полиэтиленгликоль-фибринового геля при восстановлении рубцовых повреждений голосовых складок на экспериментальной модели. В первую неделю данный имплантат не вызывает воспалительной реакции и сохраняет свою целостную структуру, практически не подвергаясь биодegradации. Использование полиэтиленгликоль-фибринового геля в качестве клеточного носителя статистически значимо снижает интенсивность интраоперационного кровотечения ( $p=0,03945$ ), при этом риск дыхательных нарушений не становится выше. По данным исследования на ранних сроках (3-й день) МСК человека сохраняются в месте имплантации в голосовых складках кролика, при этом введение МСК костного мозга человека, иммобилизованных в ПЭГ-фибриновом гидрогеле, обеспечивало более высокую концентрацию клеток в месте повреждения, что позволило авторам сделать вывод об уменьшении потери клеток при имплантации при использовании скаффолда – ПЭГ-фибринового геля.

С помощью целого ряда современных методов оценки: морфологического исследования с различными видами окрасок и режимов световой микроскопии, морфометрического анализа толщины рубцовой ткани, балльной оценки морфологических признаков рубцовой ткани, иммуногистохимического исследования коллагенов I и III типов, атомно-силовой микроскопии – в работе было доказано, что мезенхимные стромальные клетки костного мозга, введенные в рану голосовой складки сразу после иссечения зрелого рубца, способствуют заживлению слизистой оболочки. В замещенной ткани, формирующейся на фоне имплантированных МСК рубцовые процессы выражены слабее и морфологически она стоит

ближе к нативной структуре голосовой складки по сравнению с дефектами, репарация которых проходила без введения клеток. Рубцы после клеточной терапии отличаются меньшей толщиной собственной пластинки слизистой оболочки, ( $p=0,06$  для аутологичных МСК,  $p<0,05$  для МСК) человека, снижением плотности упаковки коллагеновых структур на микро - и ультраструктурном уровнях, статистически значимым восстановлением соотношения коллагена III и I типов ( $p<0,05$  для аутологичных МСК).

Данные восстановления морфологической структуры голосовых складок в исследовании Свистушкина М.В. подтверждаются оценкой локальных механических характеристик голосовых складок в области повреждения, что имеет принципиальное значение, так как механические параметры голосовых складок непосредственно отражаются на голосе: нарушение генерации волн слизистой оболочки и вибрации голосовых складок при рубцовых повреждениях является результатом повышения ригидности тканей. С помощью атомно-силовой микроскопии и наноиндентирования механических свойств в жидкости показано, что модуль Юнга, отражающий жёсткость рубцовой ткани, после имплантации МСК был статистически значимо меньше, чем рубцах без имплантации, что говорит о формировании более эластичной ткани на месте дефекта под влиянием МСК костного мозга.

### **Личный вклад автора**

Научные результаты, обобщенные в диссертационной работе Свистушкина М.В. получены им самостоятельно на базе кафедры болезней уха, горла и носа Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Автором проведён анализ литературы по теме диссертационного исследования, обоснована актуальность и степень разработанности проблемы, сформулирована цель,

задачи исследования, определён дизайн и методология проведения работы. Автор принимал непосредственное участие во всех этапах проведения исследования, в том числе самостоятельно проводил эксперименты, связанные с хирургическими методами на лабораторных животных. Диссертант лично проводил сбор материала, его анализ и статистическую обработку данных.

## **Внедрение и рекомендации по использованию результатов исследования**

Полученные результаты достоверно и наглядно показывают механизмы восстановления голосовых складок при имплантации МСК костного мозга после иссечения рубца и являются основой для применения таких технологий в клинической практике, дальнейшей разработки методов лечения пациентов с рубцовыми повреждениями голосового отдела гортани с использованием клеточных технологий.

Практическая значимость диссертационного исследования так же состоит в том, что усовершенствованная в ходе эксперимента модель рубцового процесса голосовых складок на лабораторных животных может быть использована в дальнейших исследованиях по разработке способов восстановления структуры голосового отдела гортани с помощью методов регенеративной медицины и других новых технологий.

Материалы и методы исследования, его основные научные положения и выводы используются в научно-исследовательских работах кафедры болезней уха, горла и носа и Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ России (Сеченовский университет) и могут быть рекомендованы к использованию научными коллективами, занимающимися проблемой рубцовых повреждений гортани.

## **Характеристика публикаций автора по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 12 работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 3 статьи в научных изданиях, индексируемых Scopus, 7 публикаций в сборниках материалов международных и Всероссийских научных конференций (из них 2 – зарубежных конференций).

Материалы диссертации неоднократно доложены и обсуждены на всероссийских, международных и иностранных конференциях

## **Оценка содержания и оформления диссертации**

Диссертация Свистушкина М.В. оформлена в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам и методам исследования, результатам собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка использованных сокращений. Диссертация изложена на 196 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, характеризующей материалы и методы исследования, трёх глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Текст документирован 7 таблицами, 56 рисунками. Указатель литературы содержит 237 наименований, из них 28 отечественных источников и 209 зарубежных.

Диссертационная работа Свистушкина М.В. выполнена на высоком методическом уровне. Дизайн исследования соответствует поставленной цели и задачам, работа выполнена с использованием достаточных размеров экспериментальных групп, тщательном соблюдении методик исследования, применением комплекса современных методов оценки результатов. При статистическом анализе использованы адекватные поставленным задачам

методы статистической обработки данных. Все разделы диссертации изложены грамотно, логично и последовательно, дополнены наглядными фотографиями и графиками. Иллюстрации к работе оформлены согласно современным требованиям и достаточно информативны.

Выводы логично вытекают из содержания диссертации, полностью отражают поставленные в работе задачи, практические рекомендации основаны на полученных результатах исследования.

Представленная диссертация является завершенным научным трудом. Принципиальных замечаний по работе нет. Имеются единичные опечатки и стилистические неточности изложения материала, не снижающие ценности проведенного исследования и не влияющие на ее качество.

Автореферат соответствует требованиям и полностью отражает содержание диссертации.

### **Заключение**

Таким образом диссертация Свистушкина Михаила Валерьевича на соискание учёной степени кандидата медицинских наук на тему «Экспериментальное обоснование применения мезенхимных стромальных клеток в лечении рубцовых повреждений голосового отдела гортани» является научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи – оценки потенциала мезенхимных стромальных клеток в восстановлении морфологических и биомеханических характеристик голосовых складок при рубцовых повреждениях в эксперименте *in vivo*, что имеет существенное значение для оториноларингологии.

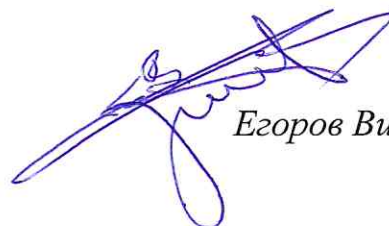
По своей актуальности, новизне, методологии, научно-практической значимости диссертация Свистушкина Михаила Валерьевича на тему «Экспериментальное обоснование применения мезенхимных стромальных клеток в лечении рубцовых повреждений голосового отдела гортани» соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении



высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора №0094/Р от 31.01.2020 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Свистушкин Михаил Валерьевич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 – Болезни уха, горла и носа.

Отзыв обсужден на совместной научной конференции сотрудников отделения оториноларингологии и кафедры оториноларингологии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского – протокол № 3 от 25 октября 2021г.

*Руководитель отделения  
оториноларингологии,  
заведующий кафедрой оториноларингологии  
факультета усовершенствования врачей  
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского  
доктор медицинских наук  
(14.01.03 – Болезни уха, горла и носа)  
доцент*



*Егоров Виктор Иванович*

подпись д.м.н., доцента Егорова В.И. заверяю

*Ученый секретарь  
ГБУЗ МО МОНИКИ  
им. М.Ф.Владимирского  
д.м.н., профессор*



*Берестень Наталья Фёдоровна*

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».  
129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2.  
Тел.: 8-495-681-55-85, e-mail: [moniki@monikiweb.ru](mailto:moniki@monikiweb.ru).  
[www.monikiweb.ru](http://www.monikiweb.ru)