

## О Т З Ы В

официального оппонента д.м.н. Анурова Михаила Владимировича на диссертационную работу Бацаленко Николая Петровича «**Методика микрохирургической невротизации мышцы**», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.17- хирургия.

### **Актуальность исследования**

Доклинические исследования имеют решающее значение для демонстрации безопасности и эффективности разрабатываемой хирургической техники и могут существенно повлиять на определение соотношения риск / польза до первого использования в клинической практике. Доклиническая работа должна осуществляться в соответствии с надежным протоколом, основанным на достоверных научных методах и регламентированной документации, что позволяет получать согласованные, надежные и прогнозирующие результаты [Biocompatibility and Performance of Medical Devices, Book, Second Edition, 2019].

Многие экспериментальные опыты значительно повлияли на лечение пациентов с каловой инконтиненцией. Инъекция аутологичных миобластов в наружный анальный сфинктер, разрабатывалась на модели у грызунов, мышечная транспозиция и стимуляция, впервые выполнялись на экспериментальной модели у собак. Эти и другие подобные опыты уже пополнили клинический арсенал способов восстановления запирающего аппарата [Evers J, Jones JFX, O'Connell PR. Systematic Review of Animal Models Used in Research of Origins and Treatments of Fecal Incontinence. Dis Colon Rectum. 2017 Jun;60(6):614-626]. В настоящее время накоплен достаточно большой опыт реконструктивных операций тазового дна, при которых перемещаются анатомически близко расположенные мышцы в качестве донорских для замещения дефекта и ануса. При перемещении страдает кровоснабжение и иннервация мышц тазового дна, вследствие чего возникает риск развития инконтиненции. В тоже время в других областях хирургии широко и успешно используется прямая мышечная невротизация с привлечением в зависи-

мости от места повреждения различных ветвей периферических нервов (например, лицевых, межреберных и др.), которая дополняется методиками, ускоряющими рост аксонов и функциональное восстановление мышц. Возникает клиническая задача, каким-то образом совместить эти вмешательства, чтобы улучшить функциональные результаты хирургического лечения пациентов после создания неосфинктера. В клинической практике апробировать сочетание различных методик не только неэтично, но и опасно. Поэтому комплексное экспериментальное исследование прямой невротизации мышц тазового дна с последующей оценкой эффективности выполненной операции и применения препаратов, локально стимулирующих рост периферических нервов, можно считать важным научным достижением, закладывающим базис для дальнейших клинических исследований не только в проктологии, но и в других хирургических дисциплинах.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Для решения вышеописанной научной проблемы автором была четко сформулирована цель диссертационного исследования: «Разработать оптимальную методику пластики диафрагмы таза путем создания в эксперименте неосфинктера прямой кишки и дать оценку влияния прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами на его функциональность», из которой логично были выведены 7 задач. Конкретно сформулированные задачи позволили провести организованное этапное исследование, когда автор последовательно отвечал на поставленные вопросы. На исходном этапе автору удалось выйти на создание экспериментальной модели пластики диафрагмы таза с заданными характеристиками максимально приближенными к клинической ситуации и показать, что основные проблемы восстановления тазовых мышц связаны с нарушением их нервно-мышечной иннервации. Разработанная экспериментальная модель позволила доказать эффективность прямой мышечной невротизации при пластике тазового дна и найти пути повышения ее эффективности путем введения нейротрофинов, стимулирующих рост периферического нерва. При этом была предложена специаль-

ная технология заполнения пространства по ходу нервного волокна нейротрофинами с градиентом концентрации, которая обеспечила контролируемый направленный рост нерва. Полученные в диссертационном исследовании данные были опубликованы в 3 научных статьях, включенных в перечень рецензируемых периодических изданий ВАК Минобрнауки России. Разработанная методика для оценки эффективности сформированного неосфинктера была оформлена в виде патента Российской Федерации.

### **Достоверность и новизна**

Системный подход при планировании и проведении диссертационного исследования нашел свое отражение и при изложении материалов в диссертационном томе, который написан в классическом виде и включает 4 главы: Литературный обзор, Материалы и методы, Результаты исследования, Обсуждение полученных результатов. В главе Литературный обзор представлен авторский анализ публикаций, охватывающий различные аспекты изучаемой темы – существующие хирургические методики восстановления тазового дна и создания неосфинктера, механизм и способы невротизации, регенерацию аксонов и различные возможности стимуляции их роста. По мере изложения данных из 112 литературных источников отдельные подразделы складываются в единую картину и становится понятен авторский взгляд на то, каким образом и какими методами можно продвигаться в поиске решения существующей проблемы. В главе «Материалы и методы» изложен дизайн исследования и набор методик в соответствии с обоснованной в литературном обзоре научной гипотезой: прямая мышечная невротизация – минимизирует риск развития инконтиненции при реконструкциях или повреждениях тазового дна.

Ход эксперимента, анестезиологическое пособие и послеоперационный уход полностью удовлетворяют международным требованиям при работе с лабораторными животными. Исследование было выполнено в 3-х основных группах у 18 половозрелых конвенциональных крыс по 6 в каждой. В качестве контроля об-

следовали 6 здоровых животных. В первой группе автор создавал модель низведения прямой кишки и формирования сфинктера из перемещенной мышцы. В следующей группе, помимо низведения прямой кишки и пластики ануса, производил под контролем микроскопа отсечение от седалищного нерва промежностной ветви и выполнял ее перемещение в подготовленные мышечные каналы сформированного неосфинктера. Наконец, завершал эксперимент группой, где прямая микрохирургическая мышечная невротизация на модели пластики тазового дна, дополнялась оригинальным способом введения нейротрофинов в толщу мышцы. Нейротрофины в холодном растворе с градиентом концентрации по ходу нерва вводились в мышцу, превращаясь при повышении температуры раствора в гель, создающий в течение длительного времени условия для ускоренного и направленного роста аксонов. Прооперированные животные наблюдались в течение 3-х месяцев, что является абсолютно достаточным сроком для завершения у лабораторных крыс процессов регенерации и адаптации. Через 90 дней после операции у всех животных методом планиметрии оценивали состояние сфинктера и производили измерение его функциональной активности: силы сжатия, частоты сокращений, периодов сокращения и расслабления. Эксперимент завершался взятием участков неосфинктера для гистологического исследования, которое помимо стандартной окраски гематаксилином и эозином включало иммуногистохимическое исследование с количественной оценкой активности синаптогенеза и содержания нервных волокон. При статистической обработке использовали параметрические и непараметрические методы, которых было достаточно для установления статистической значимости при выявлении различий.

В 3-ей главе «Результаты исследования» представлены данные, полученные у животных 3-х основных групп, путем сравнения их между собой и с данными контрольной группы, т.е. со здоровыми особями. В первой части этой главы автор подробно излагает результаты планиметрии и функциональной активности неосфинктера у животных во всех группах и проводит сравнительный анализ, в котором объективно показывает, что в группах с прямой мышечной невротизацией за-

пирательный аппарат наиболее близок к норме, особенно при использовании нейротрофинов. Во второй части главы приведены данные гистологического исследования, которые подтверждают результаты функциональных тестов, демонстрируя, что в группах с прямой мышечной невротизацией отсутствует воспаление слизистой в области ануса, минимальны дистрофические изменения в мышце неосфинктера, а при введении нейротрофинов появляются вновь образованные нервные волокна. Описание препаратов сопровождается большим количеством иллюстраций и дополнено морфометрическим анализом, которые являются убедительным доказательством сделанных гистологических заключений. В третьей части главы проведен сравнительный статистический анализ морфометрических данных, который показывает, что максимально близкие результаты по толщине мышечного слоя и восстановления эпителия не имеют статистически значимых отличий в контрольной группе и группе с использованием нейротрофинов. Кроме того, представлены межгрупповые корреляции между степенью тяжести функциональных нарушений и выраженностью морфологических изменений.

В 4-й главе «Обсуждение полученных результатов» автор, опираясь на собственные данные и литературные источники, проводит дискуссию по всем ключевым вопросам исследования и демонстрирует возможность создания способа формирования неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и стимуляцией аксонального роста, который будет в перспективе соответствовать клиническим требованиям и давать прогнозируемый результат. Автор также обосновывает выбор нерва-невротизатора и необходимость использования нейротрофинов, которые являются ключевыми факторами анатомо-физиологического восстановления запирающего аппарата прямой кишки.

### **Значимость для науки и практики**

Главным научным достижением проведенного диссертационного исследования явилась доказанная возможность использовать прямую мышечную невротизацию с введением нейротрофинов при формировании неосфинктера. Убеди-

тельность приведенных доказательств не вызывает сомнений, так как они были получены на основе созданной экспериментальной модели максимально приближенной к клинической ситуации, возникающей после экстирпации прямой кишки. По ходу исследования экспериментальная модель пластики тазового дна была дополнена прямой мышечной невротизацией и применением нейротрофинов с последующим комплексным морфофункциональным обследованием животных спустя 3 месяца после операции. В связи с тем, что были получены объективные доказательства того, что формирование неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и градиентом нейротрофинов является наиболее эффективным решением, данная методика может рассматриваться как перспективная разработка для продолжения доклинических испытаний и последующего внедрения в клиническую практику.

### **Достоинства и недостатки**

Автор использовал системный подход, который позволил точно определить научную проблему, четко сформулировать цель и поэтапно выполнить грамотно организованное научное исследование. Диссертация написана по традиционной схеме, хорошим литературным языком. 3 опубликованные статьи и 1 патент РФ подтверждают творческий подход автора к исследовательской работе. Автором получены новые результаты в области пластики мышц тазового дна с использованием невротизации и показана возможная перспектива применения кондуитов, стимулирующих направленный рост нервных волокон.

Выводы и практические рекомендации научно обоснованы, полностью соответствуют цели исследования и поставленным задачам, достоверность их не вызывает сомнений. Однако при прочтении диссертации появилось несколько вопросов к ее содержанию:

В качестве контрольной группы Вы использовали только здоровых животных того же возраста и пола, что безусловно правильно. Возможно, для полноты иссле-

дования следовало добавить еще одну контрольную группу с резекцией и низведением прямой кишки, но без создания искусственного сфинктера?

И еще один вопрос, который связан с Вашей рекомендацией использовать нейротрофины в клинической практике – Существуют ли предлагаемые Вами препараты в виде лекарственных форм, которые разрешено применять у пациентов и если да, то в каких дозах и формах Вы рекомендуете их использовать?

Следует отметить, что заданные вопросы носят лишь уточняющий характер, не умаляют ценность полученных результатов и не ставят под сомнения её основные положения и выводы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Бацаленко Николая Петровича на тему «Методика микрохирургической невротизации мышцы» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи – разработать оптимальную методику пластики диафрагмы таза путем создания в эксперименте неосфинктера прямой кишки и дать оценку влияния прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами на его функциональность, имеющей существенное значение для хирургии, что 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 от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Бацаленко Николай Петрович заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.17 – хирургия.

Официальный оппонент доктор медицинских наук,  
заведующий отделом экспериментальной хирургии  
НИИ Клинической хирургии ФГАОУ ВО  
"Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"  
Министерства здравоохранения РФ

Ануров Михаил  
Владимирович

Подпись д.м.н. Анурова М.В. заверяю  
Ученый секретарь ФГАОУ ВО  
"Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"  
Министерства здравоохранения РФ, к.м.н., доцент

*23.11.2021*



Демина Ольга  
Михайловна