

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной
работе
и общественным связям
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М.Сеченова
Минздрава России
(Сеченовский Университет)
кандидат медицинских наук,



Бутнару Д.В.

2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)**

на основании решения заседания кафедры факультетской хирургии №1 и Отдела передовых клеточных технологий научно-технологического парка ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация **«Создание тканеинженерных конструкций для восстановления критических дефектов трахеи»** выполнена в Отделе передовых клеточных технологий научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Барановским Денисом Станиславовичем, 1991 года рождения, гражданство РФ,

окончил **ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)** в 2014 году по специальности «Лечебное дело».

В 2015 году зачислен в число аспирантов 1-ого курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по специальности **Фундаментальная медицина**. Отчислен из аспирантуры в 2020 году в связи с окончанием обучения. Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2020 году в **ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**.

Научные руководители:

Паршин Владимир Дмитриевич - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением торакальной хирургии Университетской клинической больницы №1, **ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**.

Людуп Алексей Валерьевич - кандидат медицинских наук, Директор департамента по направлению «Фармацевтическая отрасль» АО «Национальная инжиниринговая корпорация».

Тема диссертационного исследования была утверждена в редакции: **«Создание тканеинженерных конструкций для восстановления критических дефектов трахеи»** приказом о научно-квалификационных работах № 4001/АС-32 от 01.11.2017г.

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования **«Создание тканеинженерных конструкций для восстановления критических дефектов трахеи»**, представленного на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 «Хирургия» и 14.03.03 «Патологическая физиология», принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационная работа Барановского Д.С. «Создание тканеинженерных конструкций для восстановления критических дефектов трахеи» выполнена в рамках проекта «Экспериментальное исследование безопасности и биосовместимости тканеинженерной конструкции на основе натурального бесклеточного плотного матрикса и назальных хондроцитов человека, при ортотопической и гетеротопической имплантации *in vivo*», реализуемого в на базе Отдела передовых клеточных технологий научно-технологического парка биомедицины Первого МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) совместно с лабораторией тканевой инженерии Института хирургических исследований Университетского госпиталя Базеля (г. Базель, Швейцария) по соглашению о субсидии № 14.614.21.0001 (ID RFMEFI61417X0001) Минобрнауки России, руководитель проекта – Заведующий отделением торакальной хирургии Университетской клиники № 1, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Паршин Владимир Дмитриевич.

Поставленные в диссертационной работе задачи актуальны, а выводы соответствуют задачам исследования. В диссертационной работе предложены способы создания тканеинженерных конструкций трахеи на основе девитализированных тканей, ревитализируемых мезенхимальными стромальными клетками, клетками легочного эпителия или назальными хондроцитами. Особый интерес представляет использование метода лазерного травления ткани при формировании матриксов-носителей на основе хрящевых тканей трахеи человека. В диссертационной работе исследованы биологическая совместимость и эффективность данных конструкций в эксперименте *in vivo*.

Диссертационная работа Барановского Д.С. является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям;

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Актуальность темы исследования обусловлена ограниченными возможностями первичной реконструкции при хирургическом лечении протяженных стенозов и дефектов трахеи, составляющих более 50% трахеи у взрослых или 30% у детей (M. Berg, et al., Tissue Engineering Part A 2012). Реконструктивная и восстановительная хирургия трахеи становится одной из практических областей медицины, где восстановление и длительное сохранение физиологических функций органа может быть достигнуто путем использования современных достижений в области клеточных технологий и тканевой инженерии. При этом, обеспечение физиологической и биологической совместимости тканеинженерных конструкций, используемых для замещения поврежденных органов или их тканей, является основным принципом применения методов тканевой инженерии в хирургической практике (Grillo, 2002, The Annals of thoracic surgery, 73(6), 1995-2004; Neville et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 99:604–612, 1990).

Тканеинженерные трансплантаты трахеи были предметом исследований с 1990-х годов (Vacanti & Upton, 1994). Но несмотря на распространение исследований и большое количество клинических испытаний, все существующие подходы не смогли решить проблему создания оптимального трансплантата дыхательных путей.

Предложенные ранее методы имели ограниченный успех из-за ненадлежащей плотности хряща в бесклеточных матриксах и потери механических свойств, приводящей к прогрессирующему размягчению, рецидивам рубцового стенозирования просвета трахеи, а также плохой

эпителиальной колонизации (Hamilton et al., 2015, American Journal of Transplantation, 15(10), 2750-2757).

Создание новых технологий получения тканеинженерных конструкций трахеи и отдельных ее компонентов является ключевым вопросом при создании трансплантата дыхательных путей.

Практическое применение тканеинженерных конструкций трахеи в будущем способно существенно повысить эффективность хирургического лечения протяженных стенозов трахеи, снижая риск послеоперационных осложнений и увеличивая качество жизни пациентов;

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Научные результаты, обобщенные в диссертационной работе Барановского Д.С., получены автором лично. Автором внесен определяющий вклад во все этапы диссертационного исследования, в том числе в проведение анализа литературных данных по теме диссертации, разработку дизайна данного исследования, проведение экспериментальных работ и экспериментальных хирургических операций на лабораторных животных, анализ и интерпретацию полученных данных. При выполнении работы автор продемонстрировал высокий уровень владения современными методами клеточной биологии, экспериментальной хирургии и постановки патофизиологического эксперимента, умение грамотного планирования исследований, а также способность к глубокому анализу и интерпретации накопленных данных;

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Полученные автором основные научные результаты представительны и достоверны. Использованные методики исследования корректны. Выводы диссертационной работы полностью обоснованы и соответствуют полученным результатам. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием в работе комплекса методических подходов:

методов визуализации (световая, конфокальная и электронная микроскопия, компьютерная томография), оценки жизнеспособности клеточных культур, оценки цитотоксичности и цитосовместимости используемых материалов, использованием современных методов оценки результатов;

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Проведена оценка возможностей ревитализации девитализированных тканей трахеи кролика легочным эпителием. Было установлено, что трехслойная ТИК трахеи кролика может быть создана путем двусторонней поверхностной ревитализации. Причем наружная поверхность матрикса-носителя заселена сингенными МСК КМ, а внутренняя клетками легочного эпителия. Имплантация ТИК трахеи кролика лабораторному животному (кролик породы “Серый великан”) при моделировании критического дефекта стенки трахеи не показала признаков отторжения трансплантата, развития рубцового стеноза просвета, трахеомалации, выраженного воспаления тканей, или миграции ТИК.

Впервые на основе хрящевой ткани трахеи человека разработана усовершенствованная тканеинженерная конструкция хрящевой ткани трахеи, созданная из кадаверного материала, подвергнутого высокоточному лазерному травлению, с ревитализацией назальными хондроцитами человека *in vitro* и *in vivo*;

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Практическая значимость работы заключается в том, что разработана универсальная экспериментальная хирургическая модель критического дефекта стенки трахеи и модель оценки эффективности тканеинженерных конструкций, пригодная для использования в рамках доклинических исследований.

Впервые разработан и обоснован дизайн ТИК трахеи, предназначенных для пластического закрытия критических дефектов стенки трахеи и

предотвращения возникновения поздних послеоперационных осложнений при восстановительных операциях в виде рубцовых стенозов трахеи и трахеомалации. Предложенные в настоящей работе подходы к созданию матрикс-носителей для получения хрящевой ткани трахеи человека могут быть использованы при разработке тканеинженерных конструкций и различных имплантируемых протезов дыхательных путей.

Метод лазерного травления может использоваться для изготовления матрикс носителей в тканевой инженерии хрящевой ткани трахеи человека, соответствующих свойствам нативных хрящевых тканей.

Разработана методика ревитализации матрикса-носителя тканеинженерных конструкций назальными хондроцитами, обеспечивающая колонизацию матрикса клетками в течение 7 дней с поддержанием жизнедеятельности и миграции адгезированных клеток в лунки матрикса. Разработанные методы формирования ревитализированных носителей могут применяться для создания тканеинженерных конструкций различных хрящевых тканей человека.

Разработанный способ оценки жизнеспособности тканеинженерной конструкции при закрытии критического дефекта трахеи может применяться в трансплантологии и экспериментальной хирургии для оценки тканеинженерных конструкций полых органов.

Настоящая работа выполнена в рамках проекта «Экспериментальное исследование безопасности и биосовместимости тканеинженерной конструкции на основе натурального бесклеточного плотного матрикса и назальных хондроцитов человека, при ортотопической и гетеротопической имплантации *in vivo*», реализуемого в Первом МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России и Университетском госпитале Базеля по соглашению о субсидии № 14.614.21.0001 (ID RFMEFI61417X0001) Минобрнауки России (руководитель проекта – Заведующий отделением торакальной

хирургии Университетской клиники № 1, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Паршин В.Д.).

Полученные результаты послужили основной для подготовки патентов на изобретения: «Способ ускоренной децеллюляризации биологической ткани или органа» (Патент на изобретение RU 2714327 C1, 14.02.2020, Заявка № 2019131332 от 04.10.2019) и «Способ оценки жизнеспособности тканеинженерной конструкции при закрытии критического дефекта трахеи на модели экспериментального животного» (Патент на изобретение RU 2730924 C1, 26.08.2020, Заявка № 2019141913 от 17.12.2019);

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Ценность научных работ соискателя заключается в том, что в них поставлена и решена научная проблема создания и совершенствования тканеинженерных конструкций трахеи в условиях эксперимента *in vitro* и *in vivo*, имитирующих сложную архитектуру и клеточный состав нативной стенки трахеи;

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Разработанная тканеинженерная конструкция может быть использована в дальнейших доклинических и клинических исследованиях при создании биомедицинского продукта. Результаты данной работы могут служить теоретическим и практическим обоснованием при использовании тканеинженерной конструкции трахеи на основе кадаверных хрящевых тканей человека в клинической практике;

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертационная работа «Создание тканеинженерных конструкций для восстановления критических дефектов трахеи» Барановского Дениса Станиславовича является законченным научным исследованием, удовлетворяет всем требованиям, предъявленным ВАК РФ к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, и полностью

соответствует специальностям 14.01.17 «Хирургия» и 14.03.03 «Патологическая физиология». Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию;

• **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликовано 5 печатных работ в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и индексируемых Scopus.

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Интерлейкин IL-1E стимулирует ревитализацию хрящевого матрикса назальными хондроцитами человека *in vitro* Барановский Д.С., Люндуп А.В., Балясин М.В., Клабуков И.Д., Красильникова О.А., Крашенинников М.Е., Паршин В.Д. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2019. Т. 21. № 4. С. 88-95.
2. Экспериментальная ортотопическая имплантация тканеинженерной конструкции трахеи, созданной на основе заселенного мезенхимальными и эпителиальными клетками девитализированного матрикса Балясин М.В., Барановский Д.С., Демченко А.Г., Файзуллин А.Л., Красильникова О.А., Клабуков И.Д., Крашенинников М.Е., Люндуп А.В., Паршин В.Д. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2019. Т. 21. № 4. С. 96-107.
3. Ортотопическая имплантация тканеинженерной конструкции на основе девитализированного матрикса для восстановления поврежденной трахеи: *in vivo* исследование Балясин М.В., Барановский Д.С., Клабуков И.Д., Демченко А.Г., Файзуллин А.Л.,

Красильникова О.А., Крашенинников М.Е., Люндуп А.В., Паршин В.Д. Гены и Клетки. 2019. Т. 14. № 5. С. 34-35.

4. Получение бесклеточного матрикса хряща трахеи для тканеинженерных конструкций *Барановский Д.С., Демченко А.Г., Оганесян Р.В., Лебедев Г.В., Берсенева Д.А., Балясин М.В., Паршин В.Д., Люндуп А.В.* Вестник Российской академии медицинских наук. 2017. Т. 72. № 4. С. 254-260.
5. Получение функционально-полноценного мерцательного эпителия in vitro для тканевой инженерии трахеи *Барановский Д.С., Люндуп А.В., Паршин В.Д.* Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. Т. 70. № 5. С. 561-567.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

Международная научная конференция «TERMIS World Congress 2018» (г. Киото. Япония, 4-7 сентября 2018 г, устный доклад),

Международный хирургический конгресс «Jahreskongress der Schweizerischen Gesellschaft für Chirurgie» (г. Берн. Швейцария, 15-17 мая 2019 г., устный доклад),

Международная конференция торакальных хирургов «27th ESTS Meeting 2019» (г. Дублин. Ирландия, 09 - 12 июня 2019г., постерный доклад)

IV Национальный конгресс по регенеративной медицине (г. Москва, 20-23 ноября 2019 г., постерный доклад)

Диссертация соответствует требованиям п. 19 Положения о присуждении ученых степеней Университета и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Барановского Дениса Станиславовича «Создание тканеинженерных конструкций для восстановления

критических дефектов трахеи» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 Хирургия и 14.03.03 Патологическая физиология.

Заключение принято на совместном заседании кафедры факультетской хирургии №1 и Отдела передовых клеточных технологий научно-технологического парка ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты голосования:

Присутствовало на заседании 15 чел. Результаты голосования: «за» – 15 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 2 от “29” мая 2020 г.

Председательствующий на заседании:

д.м.н.,

заведующий кафедрой факультетской хирургии № 1

Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет)

Комаров Р.Н..

