

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Бежина Александра Ивановича на диссертационную работу Даштоян Георгия Эдуардовича «Сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживляемость жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных животных», представленной в диссертационный совет ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.9. Хирургия и 3.1.16. Пластическая хирургия

Актуальность избранной темы

В современной науке и практике пластической и реконструктивной хирургии направление пересадки собственной жировой ткани с использованием различных методов клеточного потенцирования имеет крайнюю актуальность и высокую значимость.

Имея большое количество таких позитивных, как минимальная инвазивность, биосовместимость и практическая эффективность, аутотрансплантация собственной жировой ткани имеет главный существенный недостаток – непрогнозируемое приживание пересаженного материала. Именно снижение резорбции пересаженного материала и возможность повлиять на степень выраженности данного механизма является краеугольным камнем современных исследований в данной области, а использование мезенхимальных стволовых клеток для клеточного потенцирования – наиболее актуальной перспективой.

Среди значимых преимуществ в виде малой инвазивности и абсолютной биосовместимости, данная методика имеет значительный малоконтролируемый аспект - непрогнозируемая неоваскуляризация и резорбция пересаженного аутоматериала. Возможность повлиять на данные механизмы потенциально открывает новые горизонты использования данной оперативной методики и является целью большого количество современных исследований в этой области пластической хирургии.

Наиболее перспективной на сегодняшний день является применение стволовых клеток жировой ткани. Преимуществом этой технологии является простое получение фракции стволовых клеток, в большом количестве находящихся в жировой ткани. Стволовые клетки жировой

ткани имеют большое сходство с подобными клетками костного мозга. Разница в упрощенной технике получения жировой ткани – в вакуумной аспирации.

Поэтому изучение влияния мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на приживаемость аутотрансплантатов является крайне актуальным и стратегически необходимым для дальнейшего развития пересадки собственного жира. Недостатки- атрофия ткани, ее фиброз, нарушение эстетических проблем.

Таким образом актуальность диссертационной работы Даштояна Георгия Эдуардовича на тему «Сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживляемость жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных животных» крайне высока и не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В представленной работе впервые на достаточном клинко-экспериментальном материале проанализировано и доказано позитивное влияние мезенхимальных стволовых клеток на процессы приживление пересаженного материала.

Данное исследование представлено значительным клинко-экспериментальным материалом, где было проведено 30 операций аутотрансплантации собственной жировой ткани с целью анализа влияния мезенхимальных стволовых клеток на пересаженный материал.

Разработанная экспериментальная модель показала свою эффективность для моделирования и анализа хирургической пересадки собственной жировой ткани, а также возможность эффективного использования мезенхимальных стволовых клеток при добавлении в пересаженный липоаспират.

В исследовании подробно проанализирована разница прогрессирующих изменений в пересаженном аутоматериале на сроках 1,3 и 6 месяцев, проведена сравнительная параллель между «чистым» аутотрансплантом и аутотрансплантатом, смешанным с мезенхимальными стволовыми клетками. Для оценки полученных результатов диссертант использовал морфологические методы исследования, бальную оценку результатов.

Проводил статистическую обработку экспериментальных данных параметрическими (одномерный дисперсионный анализ, критерии Ньюмена-Кейлса и Даннета) и непараметрическими (критерий Уилкоксона) методами.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Проведенное клинико-экспериментальное исследование позволяет концептуально и фундаментально оценить влияние мезенхимальных стволовых клеток на процессы неоваскуляризации и резорбции, а также дает перспективу и направление для дальнейших клинических исследований и широкого клинического применения данного оперативного подхода в пластической и реконструктивной хирургии.

Разработаны и внедрены в практику методы культивирования стволовых клеток жировой ткани, а также оптимальная концентрация для дальнейшей пересадки аутоотрансплантата.

Значимость полученных выводов, сформированных рекомендаций, их новизна и практические перспективы полностью продемонстрирована автором представленного исследования. Материалы диссертации, описание экспериментального метода и иллюстрации убедительно свидетельствуют о научно-практической ценности работы Даштояна Георгий Эдуардовича и востребованности результатов для решения важных проблем пластической и реконструктивной хирургии.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Содержание диссертационной работы Даштояна Георгия Эдуардовича, представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, полностью соответствует паспортам научных специальностей 3. 1.9. «Хирургия», 3.1.16 «Пластическая хирургия».

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных.

По результатам исследования автором опубликовано 3 работы, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты

диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук; 1 статья в зарубежном научном издании, индексируемом в международных базах (Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer).

Оценка объема, структуры и содержания диссертационной работы

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы: всего 99 страниц машинописного текста. Работа содержит 6 таблиц и 27 рисунков. Список литературы включает 161 источник (16 отечественных, 145 зарубежных авторов).

В главе «Обзор литературы» Георгий Эдуардович Даштоянц представил историю использования аутотрансплантации жировой ткани в пластической хирургии, классификацию стволовых клеток и способы их выделения. Диссертант приходит к выводу о том, что исследования влияния стволовых клеток взрослого организма и факторов роста находятся еще на начальном этапе, поэтому должны быть проведены обширные доклинические и клинические исследования эффективности и безопасности данных методов в пластической хирургии и регенеративной медицине. Созданы и продолжают разрабатываться методы обогащения жировой ткани факторами роста, усиливающими неоваскуляризацию и выживаемость жировых трансплантатов. Глава интересная, легко читается. Она свидетельствует о широком кругозоре и глубоких знаниях диссертанта.

Материалы и методы исследования (глава 2) описаны очень подробно и позволяют читателю ознакомиться как с технологией пересадки жировой ткани в аспекте клеточного потенцирования. Диссертант для взятия жировой ткани использовал прокол кожи и вакуумную аспирацию жирового аутотрансплантата. Хирургические эксперименты автор проводил с соблюдением положения по использованию лабораторных животных. В этой главе представлен дизайн исследования. Подробно и понятно описана методика проведения эксперимента. Аутотрансплантация жировой ткани является технически очень деликатной манипуляцией и требует особого внимания на каждом этапе ее проведения. Наличие большого количества микроэтапов критически влияет на

жизнеспособность и выживаемость адипоцитов. Автор подробно описывает методику аутотрансплантации жировой ткани.

В этой главе целесообразно было бы описать используемые морфологические методы исследования. Помимо классической оценки под увеличением, автором были проведены также фазово-контрастная микроскопия и микроскопия темного поля. А вот гистологические методы исследования диссертант описывает в главе «Заключение».

Гистологическая оценка включала в себя следующие параметры: 1) уменьшение объема жировой ткани; 2) резорбция жировой ткани макрофагами и гигантскими клетками; 3) прорастание жировой ткани соединительной тканью. Оценку осуществляли предложенной автором балльной системе. Целесообразно было бы эту вторую главу закончить использованными статистическими методами исследования, которые есть в главе собственных исследований.

Результаты собственных исследований отражены в трех главах -3, 4 и 5.

В 4 главе представлены результаты собственных данных. В подглаве 4.1 диссертант показывает результаты гистологического исследования. Так, на сроках 1 месяц, где трансплантировалась суспензия жировой ткани из холки кроликов без добавления МСК, к 1 месяцу после операции в тканях раковины обнаруживали жировую ткань без четких границ, без признаков тканевого отторжения и без некроза, что свидетельствовало о полном приживлении трансплантата. Однако, уже на этот срок у 3 из 5 животных отмечались признаки разной степени резорбции жировой ткани макрофагами и гигантскими многоядерными клетками, а также прорастание трансплантата соединительной тканью. К 3 месяцам после операции значительно усилилась как резорбция жира, так и замещение его фиброзной соединительной тканью. Объем жировой ткани резко сокращался. Через 6 месяцев в 4 из 5 случаев жир в ушной раковине уже не обнаруживался. В заместившей его фиброзной соединительной ткани выявляли признаки обратного развития фиброза (инволюции), у части животных оставались олеогранулемы – гранулемы из фагоцитирующих жир клеток.

В опытной группе животных, в жировой ткани аутотрансплантата добавлялись МСК, уже к 1 месяцу только у 2 из 5 животных отмечались незначительные признаки резорбции жира, прорастания соединительной

ткани и уменьшение объема трансплантата. В 3 случаях объем жировой ткани почти не уменьшался, резорбция и прорастание соединительной ткани было минимальным. Отмечалась неоваскуляризация области трансплантата, что, возможно, связано с действием сосудистых факторов МСК. В частности, образование новых сосудов происходило в соединительно-тканых септах, разделяющих участки жировой ткани. Улучшенное кровоснабжение и питание жировой ткани, по-видимому, явилось причиной ее замедленной инволюции.

Объем жировой ткани у 3 из 5 животных почти не менялся, резорбция жира и замещение его соединительной тканью были слабо выражены. Только у 2-х кроликов отмечалось уменьшение объема, резорбция и фиброз жирового ауто трансплантата.

Доказательной является балльная оценка морфологических признаков изменения ушной раковины (уменьшение объема, резорбции и фиброза). Через 6 месяцев содержание жировой ткани в ушной раковине уменьшается, но остается значительно больший ее объем, чем в контрольной группе на этот срок.

Подглава посвящена статистическому анализу полученных результатов трех главных параметров. (Балльная оценка уменьшения объема в контрольных и опытных группах). В контрольных группах уменьшение объема через 6 месяцев после операции было статистически значимо по сравнению с 1 месяцем. В опытных группах объем значимо не уменьшался. Степень резорбции в опытных и контрольных группах статистически значимо не различалась на всех сроках исследования. Выраженность фиброза в контрольных группах через 3 месяца после операции была значимо больше, чем через 1 месяц. В экспериментальной группе степень фиброза достоверно возрастала только через 6 месяцев после операции. Через 3 месяца после операции выраженность фиброза в опытной группе была значимо меньше, чем в контрольной, через 6 месяцев различия в степени фиброзирования в опытной и контрольной группе были недостоверными.

Таким образом, в результате проведенных исследований диссертант достоверно доказал положительное влияние стволовых клеток на приживание жировых ауто трансплантатов. Исследование жировой ткани на сроках 30 дней после пересадки позволяет сделать следующие заключения: в контрольной группе, где выполнялась ауто трансплантация чистой жировой

ткани, в ткани имплантата постепенно усиливались фиброзные процессы. Жировая ткань частично заместилась фиброзным компонентом. Скопление незрелых адипоцитов на этих же сроках значительно выше, в сравнении с более долгими сроками. При этом в опытной группе явления фиброза на всех сроках значительно ниже. Соединительная ткань лишь в небольшой степени замещала жировую, там меньше скапливались незрелые адипоциты, значительно усиливалась васкуляризация и, в конечном итоге, лучше сохранялась жировая ткань трансплантата.

Пятая глава посвящена обсуждению результатов и обоснованию целесообразности использования СКЖТ для увеличения приживаемости жировых ауто трансплантатов в клинической практике. Интересная глава. В ней автор анализирует полученные экспериментальные данные, сопоставляет с результатами литературы и приходит к подтверждению клинической эффективности применения СКЖТ с целью позитивного влияния на механизмы реваскуляризации и снижения резорбции. Далее автор обсуждает онкологическую настороженность использования мезенхимальных стволовых клеток для обогащения жировой ткани.

Г.Э. Даштоян доказал, что обогащение пересаженной жировой ткани культивированными мезенхимальными стволовыми клетками позволяет не только усовершенствовать стандартную процедуру липофилинга, но и значительно повлиять на выживаемость жировых трансплантатов за счет усиления неоваскуляризации, снижения явлений резорбции и фиброза последних. Добавление взвеси мезенхимальных стволовых клеток в пересаживаемый материал крайне положительно влияло на все 3 оцениваемых параметра. Полностью были подтверждены основные известные принципы и механизмы приживления и резорбции пересаженной жировой ткани. На этапе первого месяца автором были отмечены незначительные проявления склеторических изменений в пересаженных материалах – в основном, краевые фибротические изменения и замещение соединительной тканью. При этом основной объем пересаженного материала сохранялся. Но в дальнейшем, на этапах трех и шести месяцев, признаки фиброза и резорбции крайне прогрессировали, а в некоторых случаях автором было отмечено формирование олеогранулем, которые впоследствии эвакуировались макрофагальными клетками.

В заключении диссертант анализирует полученные результаты.

Выводы, сформулированные в диссертации, основываются на полученных результатах и отвечают на поставленные во введении цель и задачи исследования.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации и требованиям ГОСТ. В нем представлены ряд рисунков и таблиц, наглядно отражающих результаты работы. В автореферате отражены актуальность исследования, цели и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, соответствие паспорту специальности и апробация результатов, внедрение результатов в практику, личный вклад автора; изложены материалы и методы исследования; описаны основные результаты работы, сформулированы выводы и практические рекомендации; представлен перечень публикаций автора по теме диссертации, а также список сокращений.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Принципиальных замечаний по работе нет. Для поддержания дискуссии хотелось бы получить ответ на следующие вопросы:

1. Кто консультировал гистологические исследования, которые являются основным доказательным методом в работе?
2. Были ли у животных осложнения после аутотрансплантация собственной жировой ткани с и без использования мезенхимальных стволовых клеток?

Заключение

Диссертация Даштояна Георгия Эдуардовича «Сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживляемость жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных животных» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.9. «Хирургия» и 3.1.16. «Пластическая хирургия» представляет собой самостоятельную квалификационную работу, содержащую решение важной и актуальной задачи хирургии, пластической хирургии сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживляемость жировых

ауто трансплантатов в эксперименте. По актуальности, новизне, теоретической и научно-практической значимости результатов и объему проведенных исследований представленная работа 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 Сеченовского университета от 06.06.2022 N 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Даштоян Георгий Эдуардович достоин присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по научным специальностям 3.1.9. — «Хирургия», 3.1.16 - «Пластическая хирургия».

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (14.01.17), профессор,
заведующий кафедрой оперативной хирургии
и топографической анатомии

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

 Бежин Александр Иванович

Адрес: Российская Федерация, 305041,
Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3.
Телефон: +7 (8-4712)-58-81-42.

Адрес электронной почты: abezin@yandex.ru

Подпись Бежина А.И. заверяю.
Ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России
доктор биологических наук, профессор



 Медведева О.А.

29 августа 2023 г.