

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора
по научной работе

и медицинским технологиям
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России
кандидат медицинских наук

Смирнов А.В.

2023 г.



А.В. Смирнов

ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» о научно-практической ценности диссертации Антошина Артема Анатольевича на тему «Биодеградируемые матрицы на основе фибриллярного коллагена для аугментационной уретропластики», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.1.10. Биомеханика и биоинженерия

Актуальность темы выполненной работы

Стриктура уретры является относительно распространенным урологическим заболеванием. Стриктура уретры может значительно ухудшить качество жизни пациентов, а также привести к серьезным осложнениям, таким как infertility, инфекция мочевыводящих путей и повреждение почек (гидронефроз, пиелонефрит и т.д.).

Выбор тактики лечения стриктур уретры зависит от множества факторов, тем не менее, в большинстве случаев предпочтение отдается хирургическому подходу. «Золотым стандартом» в лечении стриктур уретры является использование собственных тканей пациента (слизистой щеки, кожи), однако их применение чревато рядом осложнений: инфицирование и болезненность в зоне забора; рост

волос в просвет уретры (кожный трансплантат); несоответствие эпителия трансплантата и уротелия, инфицирование места трансплантации (буккальный трансплантат). Вследствие этого клиницистами и исследователями ведется поиск альтернативных подходов и трансплантатов для лечения стриктур уретры, одним из которых является применение тканеинженерных матриц (скаффолдов).

Наиболее часто используемой в клинической практике тканеинженерной матрицей является децеллюляризованная коллагеновая матрица, полученная из различных тканей животных (подслизистой основы тонкой кишки, мочевого пузыря, кожи). Общим недостатком всех этих матриц является сильная изменчивость их свойств в зависимости от партии и источника получения (толщины, плотности, сроков биodeградации), что в конечном итоге приводит к значительной вариабельности прогноза лечения у различных пациентов. Вследствие этого, ведется поиск оптимальных методов по методам искусственной реконструкции коллагена для получения матриц со стабильными, воспроизводимыми и прогнозируемыми свойствами. Среди всех вариантов стоит отметить метод электрофоретического осаждения, поскольку он отличается высоким качеством получаемых матриц, большой производительностью, стандартизируемостью и дешевизной, что, безусловно, важно для его последующего применения с целью промышленного широкомасштабного производства для удовлетворения клинических потребностей.

В ряде исследований было показано, что добавление клеточного компонента на тканеинженерные матрицы для создания тканеинженерных конструкторов (ТИК) уретры может существенно улучшить послеоперационный прогноз (снизить количество осложнений, рецидивов, повысить шанс успеха операции, особенно в сложных случаях или при повторном вмешательстве). Для послойного и прицельного нанесения клеточного компонента и создания ТИК наиболее предпочтительно использовать современные технологические подходы, одним из которых является метод биопечати. Биопечать позволяет стандартизованно и воспроизводимо получать тканеинженерные конструкторы с высокой скоростью, что также является крайне важным фактором для их последующего клинического

применения. Одним из последних достижений биопечати является применение сфероидов – плотных агрегатов клеток шарообразной структуры, являющихся «строительными кирпичиками» тканей. Их применение с целью создания ТИК имеет ряд преимуществ и перспектив по сравнению с биопечатью клеточными суспензиями за счет лучшей выживаемости, функциональности, скорости созревания ТИК, а также плотности клеточного слоя, более близкой к нативной ткани. Напечатанные из сфероидов конструкции являются более природоподобными, и, следовательно, лучше интегрируются с окружающими тканями и способны обеспечивать функциональность замещаемой ткани.

Таким образом, диссертационная работа Антошина А.А. посвящена актуальной проблеме – созданию тканеинженерной матрицы и клеточного конструкта на её основе как альтернативных подходов для лечения стриктур уретры в клинической практике.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Тема диссертационного исследования Антошина А.А. соответствует «Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года», в том числе, в части разработки и внедрения новых медицинских технологий, развития персонализированной медицины, основанной на современных научных достижениях. Цели и задачи диссертационного исследования согласуются со «Стратегией научно-технологического развития Российской Федерации» по части перехода к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения.

Диссертационная работа Антошина А.А. выполнена по плану научно-исследовательских работ Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (регистрационный номер 121082500154-1).

Новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна диссертации определяется тем, что данная работа является первым исследованием, в котором была разработана технология полного цикла (от выделения коллагеновой суспензии до постобработки) по производству механически прочных коллагеновых матриц на основе метода электрофоретического осаждения для применения в аугментационной уретропластике.

Для достижения этого результата авторы использовали два уникальных подхода – первый, на этапе получения матриц, где при электрофоретическом осаждении был применен полупроницаемый барьер, предотвративший попадание в структуру матриц пузырей и позволивший сохранить ее целостность и прочность; второй – перфорация и лиофилизация матрицы для получения Янус-структуры. Янус-структура позволяет после имплантации, с одной стороны, нарастать уротелию после имплантации, с другой – способствует скорейшему врастанию в неё соединительной ткани с сосудами.

В результате проведенных исследований было показано, что на 6 месяц после операции (180 день) в группе имплантации коллагеновой матрицы не наблюдалось признаков фибротических изменений, формирования стриктуры, что стало возможным благодаря использованному дизайну матрицы – Янус-структуре. При этом в контрольной группе без применения матрицы существенные фибротические осложнения и стриктура развились к 45 дню.

Впервые в мире диссертантом была выполнена задача по биопечати жизнеспособных клеточных сфероидов методом лазерно-индуцированного прямого переноса. Для её решения было использовано оптическое устройство, Пи-шейпер, которое минимизировало негативное влияние на сфероиды и позволило добиться их высокой выживаемости – аналогичной таковой для контрольной группы. Диссертантом была выполнена работа по оптимизации и подбору параметров лазерной биопечати клеточных сфероидов; оценке её влияния на поведение клеток в зависимости от различных режимов переноса. Как итог

реализации этой технологии – на основе Янус-матриц методом лазерно-индуцированного прямого переноса сфероидов был создан тканеинженерный конструкт на основе мезенхимальных стволовых клеток. Таким образом, впервые была показана пригодность метода лазерно-индуцированного прямого переноса не только для биопечати клеточных сфероидов, но и возможность создания этим методом тканеинженерных конструктов уретры.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость работы для науки заключается в разработке модификации традиционного подхода к электрофоретическому осаждению коллагена – при помощи полупроницаемого барьера. Такая технология позволила на качественно новом уровне получать коллагеновые матрицы – обладающие механической прочностью, бездефектностью и высокой плотностью. Разработанная технология электрофоретического осаждения открывает широкие возможности для дальнейших исследований по получению коллагеновых матриц с необходимыми свойствами и их использованию в различных клинических областях: урологии (трансплантат уретры), травматология и ортопедия (искусственная связка), ЛОР (барабанная перепонка), колопроктология («заплатка» ректовагинального свища), офтальмология (искусственная роговица).

На основании проведенного исследования по созданию и испытанию тканеинженерной матрицы и клеточного конструкта на её основе автором даны практические рекомендации. Применение коллагеновых матриц с Янус-структурой являются подходящими способом лечения стриктур уретры при проведении операций по аугментационной уретропластике. Янус-матрица предотвращает развитие стриктур на сроке наблюдения в 6 месяцев. Получение на основе коллагеновых Янус-матриц модельного тканеинженерного конструкта уретры возможно методом лазерно-индуцированного прямого переноса (LIFT) с применением специализированного оптического устройства – Пи-шейпера.

Применение Пи-шейпера позволяет добиться высокой выживаемости сфероидов в получаемом конструкте, что может быть использовано также для создания тканеинженерных конструктов других органов методом LIFT (кожи, барабанной перепонки, кости, хряща).

Личный вклад автора

Антошину А.А. принадлежит ведущая роль в разработке дизайна исследования и экспериментов. Автором самостоятельно проанализировано современное состояние отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, проведено сопоставление полученных в рамках диссертации результатов с имеющимися мировыми исследованиями.

Антошин А.А. самостоятельно проводил эксперименты по получению коллагеновых матриц, их физико-химической характеристике, нанесению на них клеточного компонента LIFT-биопечатью. Автор принимал непосредственное участие в биологических экспериментах, в том числе имплантировал разработанные коллагеновые матрицы животным.

Автор самостоятельно обрабатывал и интерпретировал полученные результаты, проводил их статистическую обработку, писал текст диссертации и автореферат. Автор подготовил и опубликовал по теме диссертационной работы научные статьи, выступал на профильных научных конференциях.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

1. Учитывая теоретическую значимость выполненного Антошиным А.А. исследования, применение основных выводов и положений работы можно рекомендовать к внедрению в научно-исследовательскую работу биомедицинских лабораторий и институтов, занимающихся регенеративной медициной, тканевой инженерией и материаловедением, профиль:

биосовместимые материалы, 3Д-биопечать, клеточная терапия, органы на чипе.

2. Учитывая практическую значимость выполненного Антошиным А.А. исследования, результаты работы могут быть использованы для коммерческого производства медицинских изделий на основе коллагена и других биосовместимых полимеров. Стоит рассмотреть стратегии патентования разработанных технологий и возможности их коммерциализации.

3. Результаты проведенного диссертантом исследования могут быть рекомендованы к использованию при разработке образовательных программ, курсов, пособий и методических рекомендаций для студентов и аспирантов по направлениям подготовки «Фундаментальная медицина», «Биологические науки», «Технические науки», направленность – «Биоинженерия», «Биофизика», «Клеточная биология», «Материаловедение», а также для ординаторов урологического профиля.

Количество печатных работ

Результаты проведенного исследования отражены в 10 научных работах, 6 из которых опубликованы в журналах, индексируемых международной базой данных Scopus; 1 - иная публикация по теме диссертационного исследования; 3 публикации в сборниках международных и всероссийских научных конференций.

Структура и содержание диссертации

Работа изложена на 167 страницах машинописного текста, построена по общепринятому плану, состоит из 10 разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список использованных

сокращений, список литературы, включающий 260 источников: 3 отечественных и 257 иностранных.

Во введении автором обоснована актуальность исследования, научная новизна и практическая значимость; четко сформулирована цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы содержит достаточное количество ссылок на исследования, его структура является логически выстроенной и понятной.

Набор материалов и методов сопровождается общей схемой дизайна научного исследования, позволяющей в доступной форме проанализировать принадлежность каждого материала и метода к этапу экспериментального исследования.

Результаты исследования проанализированы в соответствии с общепринятыми научными протоколами, что не позволяет усомниться в их достоверности. Работа проиллюстрирована 45 рисунками, содержит 6 таблиц. Иллюстративный материал является исчерпывающим, сопровождается достаточным и полным описанием каждого элемента как в подписях, так и в тексте диссертации. Каждая глава диссертационного исследования четко отражает мысль автора.

В обсуждении приведена трактовка полученных результатов и их сопоставление с имеющимися данными других исследователей, сделаны логические выводы. Выводы исследования соответствуют целям и задачам исследования. Практические рекомендации сформулированы корректно, имеют большое теоретическое и практическое значение для области биоинженерии и практического здравоохранения.

Достоинства и недостатки диссертации

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями, написана научным литературным языком, приведена общая схема диссертационного исследования, существенно упрощающая её восприятие. Для

реализации диссертационного исследования были применены сертифицированные расходные материалы, современные методы анализа, соответствующие мировым стандартам. Выбранные методы статистической оценки результатов исследования являются релевантными и позволяют говорить о достоверности различий в сравниваемых группах.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Имеются небольшие замечания и пожелания: морфологическое описание гистологических препаратов в разделе «подкожная имплантация матриц» является чересчур подборным, панель с большим увеличением матриц (200x) при окраске гематоксилином и эозином является дополнением к основной панели с меньшим увеличением (50x), и, возможно, было бы целесообразно убрать одну из этих панелей во избежание перегруженности текста; в диссертации имеются отдельные стилистические погрешности.

Тем не менее, перечисленные недостатки являются несущественными и не оказывают принципиального влияния на суть и ценность выполненной работы.


Заключение

Таким образом, диссертационная работа Антошина Артема Анатольевича на тему «Биодеградируемые матрицы на основе фибриллярного коллагена для аугментационной уретропластики» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач по разработке оригинального метода производства коллагеновой тканеинженерной матрицы и клеточного конструкта на её основе для использования в уретропластике, что имеет существенное значение для специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия и 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 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Антошин Артем Анатольевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности – 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия.

Отзыв на диссертацию Антошина Артема Анатольевича составлен заведующим Центром биомедицинских технологий, д.м.н., Баклашевым Владимиром Павловичем, заслушан и одобрен на заседании Центра биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (протокол № 1/12 от 8 декабря 2023г.)

Заведующий Центром
биомедицинских технологий
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России,
доктор медицинских наук
(1.5.4 - Биохимия)



Баклашев Владимир Павлович

Подпись д.м.н., Баклашева В.П. заверяю

Ученый секретарь
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России,
кандидат медицинских наук



Юсубалиева Гаухар Маратовна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»

Адрес: 115682, г. Москва, Ореховый бульвар д. 28.

Телефон: +7(495) 145-60-54, e-mail: info@fnkc-fmba.ru