

О Т З Ы В

официального оппонента д.м.н. Анурова Михаила Владимировича на диссертационную работу Власовой Натальи Владимировны «Реконструкция опорных тканей с использованием скаффолдов, произведенных методом трехмерной печати (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17- хирургия, 14.01.31- пластическая хирургия

Актуальность исследования

В последнее время экспериментальные исследования в хирургических специальностях являются большой редкостью. Это происходит в силу целого ряда причин, главная из которых отсутствие необходимых условий для их проведения. Поэтому комплексное доклиническое испытание композитных биоматериалов в любой хирургической специальности можно считать большим научным достижением, закладывающим базис для дальнейших клинических исследований. Относительно травматологии и ортопедии, следует отметить, что на сегодняшний день в мире ежегодно выполняются миллионы операций по замещению костных дефектов с использованием ауто- и аллотрансплантатов, негативные последствия применения которых хорошо известны. В связи с чем развиваются альтернативные направления разработки биоматериалов, которые могут позволить значительно увеличить объем костной ткани при заполнении костных дефектов. Одним из них является тканевая инженерия биodeградируемых скаффолдов. Исключительные возможности воспроизведения сложнейших пространственных форм, объектов и механизмов были открыты благодаря цифровым 3D-технологиям. В современных условиях методы быстрого прототипирования позволяют оперативно решать задачи при помощи компьютерного обеспечения для трехмерного проектирования. Создание индивидуальных сложнопрофильных имплантатов, спроектированных и изготовленных с использованием современных технологий быстрого

прототипирования могут помочь не только точно подобрать размер импланта, но и оптимизировать его состав для применения в качестве костного скаффолда.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Для решения вышеописанной научной проблемы автором была четко сформулирована цель диссертационного исследования: Разработка методов хирургической реконструкции опорных тканей скаффолдами, полученными с помощью трехмерной печати, из которой логично были выведены 5 задач. Конкретно сформулированные задачи позволили провести организованное этапное исследование, когда автор последовательно отвечал на поставленные вопросы, что позволило сначала выйти на создание скаффолда с заданными характеристиками, после чего показать *in vitro* отсутствие цитотоксичности и благоприятные матриксные свойства на культурах человеческих фибробластов, а затем доказать биосовместимость скаффолда при замещении костного критического дефекта у лабораторных крыс. Более того, автору удалось пойти дальше и найти пути повышения эффективности при использовании скаффолдов путем добавления в его структуру фактора роста (эритропоэтина), стимулирующего образование соединительной костной ткани и одновременно программируемую резорбцию самого скаффолда. Полученные в диссертационном исследовании данные были опубликованы 10 научных статьях, из них 1 статья опубликована в журнале, входящем в библиографическую базу Scopus и 4 статьи в журналах, включенных в перечень рецензируемых периодических изданий ВАК Минобрнауки РФ. Разработанные методики были оформлены в виде 3 патентов Российской Федерации.

Достоверность и новизна

Системный подход при планировании и проведении диссертационного исследования нашел свое отражение и при изложении материалов в диссертационном томе, который включает 4 главы: Литературный обзор, Материалы и методы, Результаты исследования, Обсуждение собственных результатов. В ли-

тературном обзоре представлен авторский анализ проблемы замещения костных дефектов, охватывающий на первый взгляд мозаично различные аспекты изучаемой темы – существующие классификации костных дефектов, методики прототипирования, виды и свойства костно-замещающих биоматериалов и особенности их применения. Однако по мере изложения данных из 182 литературных источников отдельные подразделы складываются в единую картину и становится понятен авторский взгляд на то, каким образом и какими методами можно продвинуться в поиске решений существующей проблемы. Соответственно в главе «Материалы и методы» был представлен набор методик, исходящий из предложенной научной гипотезы, который на разных этапах исследования позволил автору решить поставленные задачи и представить объективную оценку полученных результатов. Досконально была продумана и описана методика трехмерной печати биокерамических матриц на основе трикальцийфосфата, где были указаны все модули, из которых состояла используемая установка для 3D принтинга, даны характеристики программного обеспечения и представлены во всех нюансах настройки принтера, позволившие реализовать идею костнозамещающего скаффолда. Далее автор не спешит переходить к эксперименту на животных, а логично проводит испытания *in vitro*, поэтому в главе следует подробное описание испытания на острую цитотоксичность и теста на определение матричных свойств полученных биокерамических протезов с использованием иммортальных фибробластов человека. Исследования были проведены с двойным контролем и достаточно большим количеством проб. Острую токсичность определяли путем расчета пула жизнеспособных клеток, выжившего после 24 часов инкубации, матричные свойства биокерамических материалов оценивали путем определения изменения пула ФЧ в сроки до 28 дней. Для изучения биосовместимости была разработана экспериментальная модель критического костного дефекта у лабораторных крыс, позволившая без дополнительной иммобилизации костной отломков и внедрения инородных тел помимо скаффолда оценить процесс образования соединительной костной ткани и скорость резорбции скаффолда. Дизайн исследования, как

и модель, был лаконичен и логичен. У 90 половозрелых конвенциональных крыс моделировали костный дефект лучевой кости размером 5мм, который у 30 животных замещали трикальцийфосфатным скаффолдом точно такого же размера, у 30 контрольных животных дефект оставался без заполнения и еще у 30 – в дефект помещали скаффолд с эритропоезином. Через 10, 30 и 90 дней по 10 животных из каждой группы выводили для гистологического и рентгенологического обследования. Все данные прошли статистическую обработку с использованием параметрических и непараметрических методов, которых было достаточно для установления статистической значимости при выявлении различий. В 3-ей главе «Результаты исследования» автор представил только данные, полученные в экспериментальном исследовании у животных. В первой части этой главы автор подробно изложил динамику рентгенологических изменений в течение 3-х месячного наблюдения у животных во всех группах и провел качественный (описательный) сравнительный анализ формирования костной мозоли и резорбции имплантата, сопровождая описание большим количеством рентгенограмм. Был подтвержден критический характер сформированного дефекта и показан процесс образования костной ткани с резорбцией скаффолда, который был более выражен при использовании скаффолда с эритропоезином. Во второй части главы представлены данные гистологического исследования через 30 и 90 дней с использованием 3-х способов окраски для выявления разных видов образующейся соединительной ткани, с помощью которых удалось подтвердить отсутствие сращения костных отломков в контрольной группе и показать формирование костной ткани в исследуемых группах. При этом была выявлена более выраженная динамика замещения имплантата в группе с эритропоезином. Описание препаратов сопровождается большим количеством иллюстраций и дополнено морфометрическим анализом, которые являются убедительным доказательством сделанных гистологических заключений. В 4-й главе «Обсуждение собственных результатов автор, опираясь на полученные результаты и данные литературы, провел дискуссию по всем ключевым вопросам исследования, еще раз показав возможность создания путем 3D принтинга

скаффолда с оптимальным составом и физическими свойствами, который нетоксичен и способен инкорпорировать в свою структуру факторы роста, повышающие его эффективность. Автор также обсудил и обосновал выбор экспериментальной модели, которая, обладая целым рядом преимуществ, позволила объективно оценивать биосовместимость трикальцийфосфатного имплантата.

Значимость для науки и практики

Главным научным достижением проведенного диссертационного исследования явилась доказанная возможность оптимизации регенерации костных дефектов больших размеров за счет применения скаффолдов на основе трикальцийфосфата, полученных методом трехмерной печати и обогащенных ростовыми факторами. Убедительность приведенных доказательств не вызывает сомнений, так как они были получены на основе серии исследований *in vitro* и созданной экспериментальной модели критического дефекта костей предплечья. В связи с тем, что трехмерный скаффолд, обогащенный ЕРО, показал высокую биосовместимость в исследованиях *in vivo*, этот продукт является перспективной разработкой 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 комплексное исследование. Диссертация написана по традиционной схеме, хорошим литературным языком. 10 опубликованных работ и 3 патента РФ подтверждают творческий подход автора к исследовательской работе. Автором получены новые результаты в области протезирования опорных тканей и показана возможная перспектива применения костнозамещающих скаффолдов, полученных методом трехмерной печати.

Выводы и практические рекомендации научно обоснованы, полностью соответствуют поставленным цели и задачам, достоверность их не вызывает сомнений.

Однако при прочтении диссертации появились замечания и вопросы к ее содержанию и оформлению:

В диссертации значительная часть полученных результатов изложена в главе «Материалы и методы», а описание гистологических методов дано в главе «Результаты исследования». Такой подход нарушает последовательность изложения хода исследования и создает сложности при систематизации материала. Уверен, что в своих следующих работах автор учтет и исправит допущенные ошибки.

В процессе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. При проведении рентгенологических исследований использовался аппарат с большим фокусным расстоянием и низким разрешением. Почему, хотя бы у части крыс в каждой группе, не провели МРТ (КТ) исследование? Это значительно повысило бы информативность обследования, были бы получены количественные данные и исследована динамика изменений у одних и тех же животных, что позволило бы сократить их количество.
2. Существуют ли разработки, позволяющие вводить факторы роста в структуру скаффолда при его создании методом 3D печати?

Следует отметить, что сделанные замечания не влияют на ценность диссертации и не противоречат её положениям, а заданные вопросы имеют лишь уточняющий характер.

Автореферат диссертации написан в полном соответствии с требованиями пункта 25 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а также соответствующего национального стандарта Российской Федерации. Содержание автореферата достаточно полно отражает основные положения диссертации.

Заключение

Диссертация Власовой Натальи Владимировны «Реконструкция опорных тканей с использованием скаффолдов, произведенных методом трехмерной печати (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой

степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполненное под руководством академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Решетова И.В. и доктора медицинских наук Зелянина А.С., содержит решение актуальной научной задачи – разработать метод хирургической реконструкции опорных тканей скаффолдами, полученными с помощью трехмерной печати. Данная работа имеет важное теоретическое и практическое значение, по своему объему и методическому уровню соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г.), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Н.В. Власова, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 14.01.31-пластическая хирургия.

Официальный оппонент:

профессор кафедры организации биомедицинских исследований ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России

доктор медицинских наук  Ануров Михаил Владимирович

(специальность 14.01.31-пластическая хирургия)

Подпись д.м.н. Анурова М.В. ~~завещаю~~ заверяю:

Ученый секретарь
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России
к.м.н., доцент



 Демина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1,
Тел.: (495) 434-14-22 e-mail: rsmu@rsmu.ru

30.10.2020 г,