

### **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

кандидата биологических наук, Субботина Дмитрия Викторовича на диссертационную работу Поповой Ирины Владимировны, тема: «Экспериментальное изучение сосудистого протеза, изготовленного методом электроспиннинга», представленную к защите в диссертационный совет Д 208.063.01 при ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.01.26 – сердечно - сосудистая хирургия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

**Оценка актуальности избранной темы диссертации** И. В. Поповой определяется значительным распространением и ростом заболеваемости артерий, а также отсутствием трансплантата, отвечающего оптимальным требованиям для замены кровеносного сосуда малого диаметра (менее 6мм).

Современная хирургия активно использует различные изделия медицинского назначения в качестве имплантов. Основная их масса применяется с целью замещения или укрепления тканей. Прогресс в современной полимерной химии и технологии обуславливает развитие рынка полимерных имплантов, а новые разрабатываемые образцы изделий требуют сравнительного изучения и экспериментальной апробации с целью определения как их безопасности, так и клинической состоятельности. Наиболее требовательной областью к применению имплантатов является сердечнососудистая хирургия. Это продиктовано высокой ценой и технических и тактических ошибок, исключительными требованиями, предъявляемыми к прочностным характеристикам изделий, степени их биосовместимости, тромборезистентности и т.д. В настоящее время широко используются разные виды синтетических сосудистых протезов. Наиболее часто в качестве пластического материала искусственного происхождения применяют либо монолитные, так называемые

нетканые из растянутого политетрафторэтилена [ПТФЭ], либо текстильные (тканые и вязаные). При выборе сосудистого протеза для имплантации в конкретную область нужно учитывать конструкцию материала, его состав, качество изготовления и главные функциональные параметры изделия. Процесс апробации новых имплантов в условиях эксперимента на животных требует проведения сравнительной оценки реакции рыхлой и плотной волокнистой соединительной ткани на его размещение.

Перспективы применения полимеров и изделий медицинского назначения на их основе в клинической практике неограниченны. На данный момент из полимеров изготавливается более трех тысяч различных видов медицинских изделий. Очевидно, что дальнейшие успехи в данной сфере зависят от сотрудничества между медиками и химиками. Химическая промышленность выпускает большой ассортимент полимерных изделий и устройств с полимерным покрытием с обязательным соблюдением требований, которые к ним предъявляет медицина. Тем не менее, специальных полимеров для применения в медицине выпускается крайне недостаточно. Прогрессивная разработка новых методик синтеза и модификации медицинских полимеров и сополимеров, диффузия идей и методов химии, биологии и медицины позволяют надеяться на возможности решения насущных задач практической медицины. Важным аспектом имплантологии является предъявление жестких требований к полимерам, применяемым для изготовления протезов внутренних органов и тканей. Главное из этих требований - способность длительное время сохранять свои изначальные физико-механические свойства при постоянном деструктивном воздействии ферментов, которые выделяют клетки живого организма. Так, современная хирургия сердца и сосудов немыслима без использования изделий, изготовленных из полимеров или имеющих полимерное покрытие. Благодаря развитию технологии, протезирование стало весьма распространенным видом восстановительных операций на сосудистой, и в основном, на артериальной системе. Протезы артерий должны иметь высокую «биологическую инертностью», необходимую прочность сохраняя ее на

протяжении длительного времени, оптимальную для имплантации пространственную структуру, а также не вызывать формирования тромбов на своей поверхности при контакте с кровью (обладать тромборезистентностью).

Многие авторы указывают на отсутствие идеальных сосудистых протезов, которые соответствовали бы всем перечисленным критериям.

Таким образом, круг вышеперечисленных нерешенных проблем и определил основную цель исследования: разработать технологию и изготовить сосудистый протез методом электроспиннинга, обладающий повышенной био- и гемосовместимостью, пригодный для длительного функционирования в сосудистом русле.

#### **Оценка достоверности полученных научных результатов, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Выводы, научные положения и практические рекомендации диссертации подтверждены результатами исследования. Достаточное количество наблюдений, грамотно спланированный дизайн работы, использование современных методов статистической обработки – позволяют утверждать о достоверности и высоком качестве полученных результатов.

#### **Научная новизна и практическая значимость работы**

Работа имеет несомненное научное и практическое значение для кардиологии и сердечно - сосудистой хирургии. Результаты настоящего исследования демонстрируют новые возможности использования метода электроспиннинга в качестве альтернативного способа изготовления протезов кровеносных сосудов. Выполненное сравнительное исследование разных типов трансплантатов представляет информацию, необходимую для рационального дизайна протезов сосудов. Разработанный протокол малопроницаемого слоя протезов и полученные данные об экспериментальных протезах позволяют рекомендовать их к полноразмерным доклиническим и клиническим исследованиям.

#### **Оценка качества оформления работы**

Материал диссертации изложен доступно и лаконично.

Обзор литературы, составленный с учетом научных публикаций как наиболее современных (последние 5 лет), так и ретроспективных, демонстрирует глубину исследования вопроса автором. Эта глава работы носит обзорный характер - автор последовательно излагает литературные данные. В данной главе, изложенной в классическом стиле, информативно дано обоснование актуальности работы. Автор продемонстрировал умение работать с литературой, видение проблемы в целом.

Вторая глава - материалы и методы. В этой главе подробно изложен протокол изготовления трех видов экспериментальных протезов, включая подробное описание технологии введения в структуру стенки трансплантата малопроницаемого внутреннего слоя. А также описаны использованные в работе методы оценки предложенных протезов кровеносного сосуда. Материалом для исследования *in vivo* послужили - 45 крыс породы «Вистар», массой около 400 г. Животные в зависимости от поставленных задач были разделены на 3 группы, по 15 в каждой.

Первая группа была, условно, контрольной и содержала имплантированный в инфраренальную позицию брюшной аорты протез из поликапролактона, второй и третьей группе животных, в ту же позицию имплантировались комбинированные протезы поликапролактон с желатином, гидроксипропановой кислотой и полимер молочной кислоты.

В целом глава демонстрирует методический подход и достаточное количество наблюдений для формирования основных научных положений и выводов.

Третья глава. Глава состоит из 3-х подглав, в которых в соответствии с вышеуказанными в предыдущей главе методологическими подходами последовательно и логично изложены полученные в ходе экспериментального исследования результаты.

### 3.1 Физико-механические свойства протезов.

В данной подглаве автор демонстрирует результаты физико-механических свойств предложенных экспериментальных протезов, изготовленных с

использованием технологии электроспиннинга. Дана оценка их прочностных характеристик, реакции на разрыв и на «разлохмачивание» краев.

### 3.2 Экспериментальная часть *in vivo*.

При проведении данной части исследования были описаны следующие этапы эксперимента:

1. Оценка интраоперационных показателей - время операции, время окклюзии аорты, время гемостаза.
2. Оценка проходимости трансплантатов

Для оценки гемодинамики, определения скорости кровотока, толщины стенки протеза и внутреннего диаметра проводилось УЗИ и МРТ исследования на этапах эксперимента. Было отмечено, что протезы с малопроницаемым внутренним слоем не склонны к формированию чрезмерной неоинтимы, в отличие от протезов, не содержащих такой слой.

### 3.3 Оценка «состоятельности» протезов.

В данной подглаве показано, какими методами проводилась оценка свойств биосовместимости, гемосовместимости и гистосовместимости у животных в ходе эксперимента и при работе с эксплантируемым материалом сосудистого протеза. Для оценки цитоархитектоники ткани проводились гистологические исследования. Для уточнения популяции и состава клеточного материала, пролиферации, а также способов миграции аутоклеток проводили микроскопическую визуализацию срезов иммуно-гистохимическими методами с применением флюоресцентных красителей.

При проведении данного этапа исследования автор наблюдал миграцию клеточного материала в структуру сосудистого протеза, его наружного слоя, появление коллагена и эластина, что указывает на синтетические функции фибробластов и формирование нативного экстраклеточного каркаса. Кроме этого автор исследует процесс формирования неоинтимы в просвете сосуда, отмечая, что эндотелизация сосудистого протеза идет от места анастомоза к центру кондуита. На микрофотографиях показана сформированная неоинтима, которая, к сожалению, деградировала на финальных стадиях эксперимента в

третьей группе протезов, что автор связывает с деградацией сосудистого протеза. Однако в первой группе эндотелиальной выстилки обнаружено не было на 20 неделе наблюдения. Во второй группе протезов формирование эндотелий-подобной выстилки происходило постепенно с учетом срока нахождения протеза в организме, что наиболее характерно.

В главе **обсуждение полученных результатов** в сжатом виде излагается сущность работы и проводится обсуждение с литературными данными.

Выдвигаемые научные положения обоснованы, соответствуют сформулированной цели, задачам исследования и отражают содержание работы.

**Выводы** соответствует количеству поставленных задач.

### **Заключение**

На основании вышеизложенного, можно заключить, что диссертационная работа Поповой Ирины Владимировны «Экспериментальное изучение сосудистого протеза, изготовленного методом электроспиннинга», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является самостоятельным законченным научным трудом в виде рукописи и соответствует требованиям Министерства Образования РФ. Работа содержит решение актуальной задачи сердечно-сосудистой хирургии – создание многослойного протеза кровеносного сосуда методом электроспиннинга с анализом физико-механических свойств, а также этапов «заселения» трансплантата клетками реципиента. Представленная работа написана автором единолично и, следовательно, указывает на личный вклад в науку.

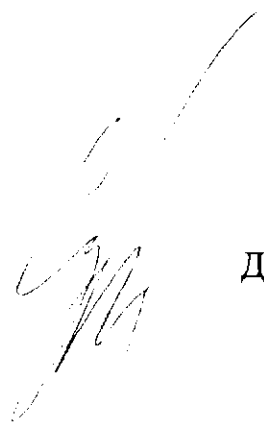
По актуальности исследуемой проблемы, новизне, материально-техническому обеспечению, практической значимости и обоснованности положений, выводов - диссертационная работа И. В. Поповой соответствует требованиям абз.2 п. 9, 10 и 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г.,

№842 (в редакции постановления Правительства РФ от 30.07.2014 г. №723),  
предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор достойна  
присуждения искомой ученой степени по специальности: 14.01.26 – сердечно-  
сосудистая хирургия; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

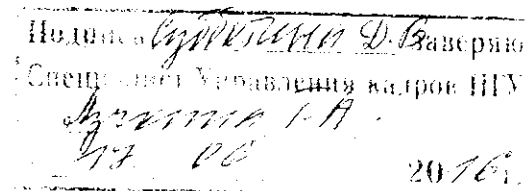
**Официальный оппонент:**

к.б.н., доцент

кафедры фундаментальной медицины НГУ



Д.В. Субботин



## СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

оригинал хранится в совете Д 208.063.01 в аттестационном деле соискателя

**ПОПОВОЙ Ирины Владимировны**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Фамилия, Имя, Отчество<br>официального оппонента                                                                                                                                                                                                                                             | Субботин Дмитрий Викторович                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Ученая степень, обладателем которой<br>является официальный оппонент, и<br>наименование отрасли науки, научных<br>специальностей, по которым им<br>защищена диссертация; ученое звание<br>(при наличии)                                                                                      | кандидат биологических наук, 03.00.25                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Полное наименование организации,<br>являющейся основным местом работы<br>официального оппонента на момент<br>представления им отзыва в<br>диссертационный совет, и занимаемая<br>им в этой организации должность (в<br>случае осуществления официальным<br>оппонентом трудовой деятельности) | Новосибирский государственный университет,<br>доцент кафедры фундаментальной медицины                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Список основных публикаций<br>официального оппонента по теме<br>диссертации в рецензируемых<br>научных изданиях за последние 5 лет<br>(не более 15 публикаций)                                                                                                                               | 1. Казанцева Г.М., Волков А.М., Кливер Е.Э.,<br>Углова Е.В., Синельников Ю. С., Субботин Д.В.,<br>Караськов А.М. Критерии перестройки<br>микрососудов сердца в оценке эффективности<br>способов анестезиологической защиты при<br>хирургической коррекции тетрады Фалло //<br>Вестник новосибирского государственного<br>университета. Серия: биология, клиническая<br>медицина. 2013. №1. Т.11. С.199-207.<br><br>2. Larionov P.M., Chernyavskii A.M., Novruzov<br>R.B., Subbotin D.V., Sergeevichev D.S., Kuznetsova<br>I.V., Karas'kov A.M., Lushnikova<br>E.L., Nepomnyashchikh L.M. Stimulation of<br>angiogenesis in rat ischemic limb by intramuscular<br>implantation of mononuclear fraction cells from<br>autologous bone marrow // Bulletin of Experimental<br>Biology and Medicine. 2011. № 4. Т 150 С.530-534. |

к.б.н.,

доцент кафедры фундаментальной медицины НГУ

Д.В. Субботин

