

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук Овсянко Елены Владимировны
на диссертацию Шевелы Александра Андреевича на тему «Патоморфологические
реакции на внедрение металлических имплантатов в костную ткань в условиях
применения клеточных технологий (экзосом мультипотентных мезенхимальных
стромальных клеток) в эксперименте», представленную на соискание
ученой степени доктора медицинских наук по специальности
3.3.2. Патологическая анатомия (медицинские науки)

Актуальность исследования. Несмотря на развитие медицины и клеточных технологий, своевременное восстановление целостности тканей, в том числе и костных, после травм и искусственных повреждений, воспалительных и деструктивных процессов является проблемным, поскольку большие дефекты не могут самостоятельно полностью зажить, что является особенно важным в случае присутствия в участке повреждения инородного тела – имплантата.

Определенные перспективы для улучшения результатов лечения костных дефектов имеют клеточные технологии. Клетки влияют друг на друга и обмениваются функциональными белками и генетическим материалом через внеклеточные комплексы – экзосомы и микровезикулы, которые играют важную роль в регенерации тканей. Экзосомы опосредуют межклеточные связи и содержат сигнальные органоиды, которые передают определенную информацию от определенной клетки к клеткам-мишеням. Благодаря этим свойствам экзосомы рассматриваются в настоящее время как новые инструменты для различных терапевтических подходов, включая регенеративную терапию. При этом установлено, что терапевтические эффекты мультипотентных стромальных/стволовых клеток во многом обусловлены не их способностью к дифференцировке в клетки поврежденной ткани, а секретлируемыми ими продуктами, в том числе, экзосомами.

Применение клеточных технологий в хирургии, стоматологии, косметологии, травматологии и ортопедии является очень актуальным направлением. Однако, несмотря на это, полностью отсутствуют морфологические результаты исследования активности острого и хронического воспалительного процесса и нарушений микроциркуляции в различных тканях при коррекции их дефектов с использованием имплантатов и применении клеточных технологий. Также следует отметить явную недостаточность сведений о реакциях тканей на внедрение имплантатов, изготовленных из одного материала, но с разным

характером поверхности. Эти обстоятельства позволяют говорить о том, что проведенное соискателем исследование обладает не только актуальностью, но и научной новизной.

Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций. В проведенной соискателем работе исследованы морфологические реакции в динамике после экспериментального моделирования повреждений костных тканей без и с последующей имплантацией винтовых металлических изделий с разным характером поверхности, дополненной использованием экзосом мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Диссертация выполнена на достаточном экспериментальном материале: использовано 107 беспородных кроликов обоего пола, которым в проксимальном мышечке большеберцовой кости моделировали дефект костной ткани. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, так как используются современные методы комплексного патоморфологического анализа: световая и люминесцентная микроскопия, рентгенография, рентгеновская денситометрия, морфометрия, а также клеточные технологии. Количественные данные подвергнуты адекватной статистической обработке с использованием программ Statistica 10 и Excel 7.0, что обеспечивает надежность интерпретации данных и является логичным и необходимым звеном между поставленными задачами и выводами. Выбранные методы отвечают поставленным цели и задачам, кроме того, своей работой соискатель раскрывает важные изменения в динамике реакций различных типов костной ткани на присутствие металла с разным характером поверхности.

Представленные материалы дают новые интересные результаты в области патологической анатомии, гистологии, цитологии, хирургии, косметологии, стоматологии, травматологии и хирургии. Положения, представленные в диссертации, носят конкретный характер и отражают то основное, что защищает соискатель.

Новизна исследования, полученных результатов и выводов диссертации. Основными результатами настоящей работы являются то, что впервые автор доказывает практически полное сращение винтового изделия с костной тканью у всех животных на 10-й день при использовании экзосом в процессе имплантации, тогда как после операции без введения экзосом зарегистрирована разнородная гистологическая картина: от практически полной

остеоинтеграции имплантата до абсолютного отсутствия контакта между инородным телом и молодой костью. Впервые показано, что в мягких тканях на поверхности проксимального мыщелка большеберцовой кости в области имплантатов у кроликов с предварительным введением экзосом уменьшается выраженность воспаления. Впервые доказано, что после имплантации металлического винтового изделия в проксимальный мыщелок большеберцовой кости кроликов с использованием меченых люминесцентным красителем экзосом, последние оказываются в легких, миокарде, печени и селезенке.

В работе впервые установлено, что характер поверхности (гладкий или шероховатый) титановых имплантатов не влияет на репаративные процессы в тканях, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимых различий в выраженности сосудистых реакций и интенсивности лейкоцитарной инфильтрации во все сроки наблюдения и на разном удалении от места имплантации.

Совокупность полученных результатов уточняет наши представления о возможности применения клеточных технологий для отраслей медицины, связанных с применением различных имплантатов. Основные результаты работы полно представлены в открытой печати, в том числе в изданиях первого квартала, что подтверждает их новизну. В работе использован большой экспериментальный материал с достаточным количеством животных на каждый срок исследования, что является достаточным для реализации принципов доказательной медицины и статистики.

Значимость для медицинской науки и практики полученных автором диссертации результатов. В диссертационном исследовании А.А. Шевелы получены новые знания о характере и выраженности репаративной регенерации в области костного дефекта конечности после применения клеточных технологий, позволивших минимизировать нежелательные реакции организма на присутствие инородного тела. Зафиксированы менее выраженные морфологические признаки острого и хронического воспаления, более ранняя смена фазы альтерации фазой репарации, консолидация, а не лизис костных фрагментов и т.д. Продемонстрирована целесообразность использования экзосом для результатов имплантации металлических изделий в костную ткань. Вероятность пролонгации воспаления в окружающих кость мягких тканях в ответ на использование

клеточной терапии определяет целесообразность дальнейшего изучения условий применения данной технологии, создание методов контролирования репарации, точное измерение дозы и количества экзосом для максимально результативного использования. Важно отметить, что введение экзосом мультипотентных стромальных клеток может быть использовано для быстрого увеличения плотности кости рядом с имплантатом и консолидации костных фрагментов, при этом показана необходимость максимально полного удаления детрита из тканей перед применением клеточных технологий.

Материалы исследований могут быть использованы в учебном процессе и научно-исследовательской работе кафедр патологической анатомии, гистологии и цитологии, общей хирургии, стоматологии, травматологии и ортопедии.

Оценка содержания работы в целом. Работа А. А. Шевелы имеет законченный характер и традиционную структуру. Она состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов исследования, 4 глав собственных исследований с их обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографии.

Первая глава работы носит обзорный характер – автор последовательно описывает особенности материалов для изготовления внутрикостных имплантатов, особенности реакций живых тканей на внутрикостную имплантацию, а также возможные модификации поверхности внедряемых изделий для повышения эффективности процедуры имплантации. Обзор литературы отражает современные представления о рассматриваемой в диссертации проблеме.

В главе «Материал и методы исследования» содержится подробное описание объектов и методов исследования. Работа основана на результатах экспериментального исследования патоморфологии тканей дистальных отделов задних конечностей после внедрения металлических винтовых изделий с гладкой полированной или шероховатой поверхностью на фоне применения (для влияния на процессы имплантации) экзосом мультипотентных стромальных клеток. Количество наблюдений (ежедневный мониторинг) с последующим морфологическим и рентгенологическим исследованием различных тканей 107 беспородных кроликов обоего пола является достаточным для получения статистически значимых результатов.

Третья глава посвящена морфологическому анализу результатов

имплантации металлических изделий с различным характером поверхности в костную ткань в эксперименте. Автор показывает, что во все сроки наблюдения и на разном удалении от места операции отсутствуют значительные отличия в выраженности сосудистых реакций и лейкоцитарной инфильтрации дермы при имплантации изделий с шероховатым или полированным характером поверхности. Однако в некоторых наблюдениях и при имплантации шероховатого, и при внедрении полированного изделий в ткани были обнаружены частицы металла, но после использования шероховатых имплантатов такие фрагменты встречались чаще и были большего объема.

В четвертой главе показаны особенности регенерации костного дефекта в условиях экспериментального применения экзосом мультипотентных стромальных клеток. Использование экзосом для регенерации дефекта костной ткани в эксперименте способствует более эффективному очищению послеоперационной раны, ее быстрому заживлению, увеличению частоты успешной регенерации поврежденной кости и формированию там менее грубой костной мозоли. У кроликов экзосомы присутствуют в тканях в месте применения не менее 12 суток, и их можно, при соответствующей метке, зарегистрировать методами световой микроскопии.

На основании данных 5-й главы «Влияние экзосом мультипотентных стромальных клеток на остеоинтеграцию металлических имплантатов в кости» доказано, что после имплантации без применения экзосом к окончанию срока наблюдения, к 10 суткам, наблюдается разнородная гистологическая картина: от практически полной остеоинтеграции внедренного изделия в проксимальный мыщелок большеберцовой кости кроликов до полного отсутствия срастания инородного тела с регенерирующей костью. После имплантации с предварительным введением экзосом у всех животных на 10-й день произошло почти полное интегрирование винтового изделия в кость. Кроме этого, во все сроки наблюдения рядом с имплантатом присутствовал меньший объем нежизнеспособного костного детрита, что, по-видимому, и явилось основной причиной достижения более стабильных результатов процедуры.

В 6-й главе диссертации приведены результаты изучения распределения экзосом мультипотентных стромальных клеток по организму после введения в костный дефект перед имплантацией. Автор показывает, что экзосомы можно

обнаружить в легких, миокарде, печени и селезенке. Во все указанные органы экзосомы были транспортированы с током крови. В легких присутствовало максимальное количество введенных меченых экзосом, причем часто они были ассоциированы с детритом и находились в просвете альвеол. В связи с вышеизложенным нельзя исключить влияния на весь организм, в том числе и на отдаленные органы, как антигенного детрита, оказавшегося в кровотоке после обширных хирургических операций, так и введенных извне экзосом.

Работа снабжена таблицами и микрофотографиями хорошего качества, иллюстрирующими состояние изучаемых объектов. В целом, работа производит весьма хорошее впечатление, несмотря на сложности с интерпретацией полученных результатов. Автором проведено серьезное исследование проблемы, рассмотрен широкий спектр морфологических изменений в различных тканях задней конечности. Представленная тема диссертационного исследования соответствует тем результатам, которые получены соискателем. Выводы диссертации сформулированы корректно, являются обоснованными, соответствуют поставленным цели и задачам и логично вытекают из полученных автором результатов. Автореферат полностью отражает основные положения и выводы диссертации.

Материалы работы были доложены и обсуждены на научных конференциях, в том числе с международным участием. По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, из них 12 – в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендуемых ВАК, а 7 – в индексируемых в Web of Sciences и Scopus, что является достаточным для публикации основных результатов диссертационного исследования.

Очевидно, что соискателем проделана большая работа, которая свидетельствует о зрелости его как научного работника, а полученные новые данные открывают перспективу дальнейшего научного творчества. Принципиальных замечаний по диссертации у меня нет.

Заключение. Диссертационная работа Шевелы Александра Андреевича на тему «Патоморфологические реакции на внедрение металлических имплантатов в костную ткань в условиях применения клеточных технологий (экзосом мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток) в эксперименте», выполненная при консультировании доктора медицинских наук, профессора,

академика РАН О. О. Янушевича и доктора медицинских наук, профессора И. В. Майбородина, является законченной научно-исследовательской квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в медицине – проведен подробный патоморфологический и рентгенологический анализ процессов восстановления целостности поврежденной костной ткани в условиях присутствия инородного тела и экспериментального применения клеточных технологий. Совокупность полученных автором данных имеет существенное значение для патологической анатомии, гистологии, цитологии, хирургии, косметологии, стоматологии, травматологии и хирургии.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов работы в рецензируемых научных изданиях диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г., 26.05.2020 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автору Шевеле Александру Андреевичу следует присудить ученую степень доктора медицинских наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры анатомии человека
имени академика Ю. И. Бородина
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Новосибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

1)



Овсянко Елена Владимировна

ный проспект, 52,
ex.ru