

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.014.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17.09.2024 г. №13

О присуждении Мелконян Карине Игоревне, гражданке России, учёной степени доктора медицинских наук.

Диссертация "Разработка и применение биопластических материалов на основе внеклеточного матрикса дермы в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств" по специальностям: 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия принята к защите 11.06.2024 г., протокол №12 диссертационным советом 21.2.014.02, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 350063, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4, действующим на основании приказа Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки Министерства образования и науки Российской Федерации (Рособрнадзора) от 16.01.2009 г. №34-1 и приказом Минобрнауки России от 11.04.2012 г. № 105/нк совет признан соответствующим Положению о совете по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук.

Соискатель Мелконян Карина Игоревна, 1984 года рождения. Диссертацию на соискание учёной степени кандидата медицинских наук "Биохимическое обоснование применения антиоксидантов и пробиотиков в комплексной терапии больных метроэндометритом" защитила в 2009 году в диссертационном совете Д 208.038.02, созданном на базе государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Кубанский государственный медицинский университет" Федерального агентства по здра-

вохранению и социальному развитию. Работает доцентом кафедры фундаментальной и клинической биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре фундаментальной и клинической биохимии в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант – доктор медицинских наук, профессор Быков Илья Михайлович, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фундаментальной и клинической биохимии, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

1. Власов Тимур Дмитриевич (гражданин России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии Научно-образовательного института биомедицины, заведующий кафедрой;

2. Рогова Людмила Николаевна (гражданка России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Волгоградский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии, профессор кафедры;

3. Вавилова Татьяна Павловна (гражданка России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет медицины" Мини-

стерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, профессор кафедры – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии", г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Сабуриной Ириной Николаевной, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником, исполняющей обязанности заведующей лабораторией клеточной биологии и патологии развития и Морозовым Сергеем Георгиевичем, членом-корреспондентом РАН, доктором медицинских наук, профессором, директором, указала, что "диссертация является самостоятельной, завершённой научно-квалификационной работой..., полностью соответствует требованиям, изложенным в пунктах 9-14 "Положения о присуждении учёных степеней"..., а её автор достоин присуждения степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия".

Соискатель имеет 159 опубликованных работ, и в том числе по теме диссертации опубликовано 57 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 33 работы. Краткая характеристика работ (вид; количество; объем в страницах; творческий вклад в %): статьи в журналах – 33, 223, 85; материалы и тезисы центральных или всероссийских научных конференций – 20, 87, 80; патенты на изобретение – 4, 35, 75.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Результаты экспериментальной герниопластики с применением ацеллюлярного дермального матрикса / К.И. Мелконян, К.И. Попандопуло, С.Б. Базлов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. –Т. 174, № 10. – С. 529–532.

2. Морфологический анализ местной тканевой реакции на подкожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермального матрикса / К.И. Мелконян, А.А. Веревкин, И.М. Быков [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – № 21 (2). – С. 97–104.

3. Мелконян, К.И. Сравнительная оценка эффективности репарации ожоговых ран при применении гидрогелевого материала на основе дермы: доклиническое экспериментальное исследование / К.И. Мелконян, С.Н. Алексеенко, И.М. Быков // Кубанский научный медицинский вестник. – 2023. – Т. 30, №6. – С. 15–27.

На автореферат диссертации поступили отзывы от: Гуриной Ольги Ивановны, члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, руководителя лаборатории нейрохимии отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии федерального государственного бюджетного учреждения "Научный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского" Министерства здравоохранения Российской Федерации; Синицкого Антона Ивановича, доктора медицинских наук, доцента, заведующего кафедрой биохимии имени Р.И. Лифшица федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Южно-Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации и Кузнецова Дмитрия Анатольевича, доктора биологических наук, профессора кафедры медицинских нанобиотехнологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзывы критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что специалисты указанных организаций являются известными и признанными учеными данной отрасли медицины, что подтверждается наличием соответствующих научных публикаций, размещенных на сайте: <http://www.ksma.ru>.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** новая идея, обогащающая научную концепцию целесообразности использования ацеллюлярного дермального матрикса в качестве раневого покрытия для оптимизации процессов эпителизации, коллагеногенеза и ангиогенеза ожоговой раны; **предложены** оригинальные суждения об

изменении биохимического состава дермы свиньи, подвергшейся детергентно-энзиматической и химической децеллюляризации; **доказана** целесообразность применения разработанных биопластических материалов в комбустиологии (раневые покрытия, композиционные повязки на основе биополимерного геля, стимулирующие регенерацию кожи, что исключает дополнительное травмирование пациентов по сравнению с аутопластикой), дерматологии, реконструктивной хирургии (применение ацеллюлярного дермального матрикса в качестве хирургических имплантов для маммопластики и герниопластики) и регенеративной медицине (терапия трофических язв, создание искусственных эквивалентов кожи); **введены** новые представления о возможностях обработки сырья с различной массой с максимальным сохранением гистологической структуры дермы без использования сшивающих токсических агентов путем применения детергентно-энзиматической обработки дермы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: **доказаны** положения, расширяющие представления о механизмах регенерации кожи и о патогенетической природе возникающих в организме метаболических эффектов в ответ на воздействие гидрогелевого материала на основе гидролизованного коллагена внеклеточного матрикса дермы на пораженные участки кожи; **применительно к проблематике диссертации результативно** использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе экспериментальных, лабораторных и статистических; **изложены** доказательства того, что использование ацеллюлярного дермального матрикса в качестве раневого покрытия при ожоговых ранах создаёт условия для регенерации кожи, обуславливающие высокие уровни виментина, цитокератина и низкие темпы ресинтеза коллагена I типа, отсутствие динамики в уровнях коллагена IV типа и фибронектина; **раскрыты** биохимические особенности динамики восстановления компонентов внеклеточного матрикса кожи при экзогенном внесении гидролизованного коллагена дермы; **изучены** морфологические особенности биоинтеграции разработанных биопластических материалов с формированием в месте имплантации плотной соединительной ткани, содержащей коллаген I типа, фиб-

робластоподобные клетки и эндотелиоциты; **проведена модернизация** существующих методов комплексного исследования биопластических материалов, описывающих их структуру, а также подтверждающих их биосовместимость и возможность применения в качестве тканезамещающих и активирующих репарацию средств.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: **разработаны и внедрены** оригинальные биорезорбируемые биопластические материалы, не содержащие синтетических сшивающих агентов, которые являются прототипами для последующей разработки медицинских изделий – раневых покрытий, хирургических имплантов; **определены** перспективы дальнейшего использования ацеллюлярного дермального матрикса как универсального тканезамещающего материала и скаффолда для тканевой инженерии; **создана** система практических рекомендаций для замены поврежденных, либо утраченных тканей, а также для научно обоснованного поиска и рационального отбора новых средств для решения проблем трансплантологии; **представлены** аргументы о целесообразности дальнейшего изучения дермального гидрогеля как биосовместимого носителя для культивирования клеточных линий различного типа, кроме того, его физические свойства и биохимический состав позволяют ему стать основой для включения различных биологически активных веществ и лекарственных препаратов, а также одним их компонентов биочернил для 3D – биопринтинга.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: **теория** диссертации построена на известных, проверяемых фактах и согласуется с опубликованными данными по диссертации; **идея базируется** на анализе существующих методов получения биопластических материалов и обобщении передового опыта специалистов в области патологической физиологии и биохимии; **использованы** современные высокотехнологичные методы исследования, общепризнанные в мировой и отечественной науке; **установлено** качественное соответствие авторских результатов с представленными в независимых источниках по дан-

ной тематике; **использованы** современные методики получения и обработки экспериментальных данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии диссертанта на всех этапах исследования, обработке и интерпретации экспериментальных и лабораторных данных, участии в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и вопросы:

1. При закрытии раны ацеллюлярным дермальным матриксом восстановление кожи в ране было хуже, чем при использовании рецеллюляризованного дермального матрикса. Учитывая, что кожа содержит большое количество эпителиальной ткани, с чем диссертант связывает лучшее восстановление эпителия?

2. С чем связаны более высокие уровни провоспалительных цитокинов после ожоговой раны у крыс в опытной группе (при использовании гидрогеля) и группе сравнения, по сравнению с контрольной? Тем более, что гидрогель согласно предыдущей серии исследований ускорял заживление ожоговой раны.

3. Как бы автор определила, когда и в каких условиях предпочтительнее использовать ацеллюлярный дермальный матрикс, а когда коллагенсодержащий гидрогель на основе биополимеров дермы при лечении ожоговой раны?

4. Роль металлопротеиназ в механизме неоангиогенеза при ожоговой травме.

5. Ведущее звено влияния дермального гидрогеля на ткани в зоне ожоговой альтерации?

6. С какой целью в работе определялись четыре типа ростовых факторов?

7. В каком случае эксперимент проводили на свиньях, а в каком на крысах линии Вистар?

8. Насколько биохимический состав кожи свиньи соответствует коже человека, и можно ли по предложенным методикам обработать дерму других животных?

9. Чем был обоснован выбор вида лабораторного животного, на котором производили анализ приживления раневых покрытий при раннем и этапном хирургическом лечении ожогов.

10. Определялась ли предварительная стоимость разработанных биопластических материалов?

Соискатель К.И. Мелконян убедительно ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы, согласилась со всеми замечаниями и привела собственную аргументацию по следующим:

1. На самом деле восстановление эпителия при использовании рещеллюляризованного дермального матрикса было эффективнее, данный эффект может быть связан с внесением фибробластов в область повреждения. Внесенные клетки, скорее всего, погибали, но выделяли факторы роста и различные молекулярные паттерны для индукции пролиферации и миграции эпителиальных клеток из придатков кожи, находящихся в дерме.

2. Полученные данные по цитокинам на самом деле немного противоречивы. Мы увидели классический противовоспалительный ответ в группах с лечением в отношении только одного провоспалительного цитокина IL8, при этом количество нейтрофилов в опытных группах было меньше, чем в контроле, то есть компоненты препаратов, вероятно, могут модулировать их функциональную активность. В отношении количества M1-макрофагов (CD68-позитивные клетки) не наблюдали отличий от контроля, но продукты их активации (IL1 β , IL6, TNF α) преобладали в опытных группах, к сожалению, мы не проводили учет M2-макрофагов, возможно, это дало бы больше данных для анализа, учитывая достаточно адекватную динамику концентраций противовоспалительных цитокинов.

3. У дермального гидрогеля на наш взгляд шире область применения, так как он может быть использован, во-первых, для лечения больших по площади поражений кожи, а также может быть нанесен на анатомически сложные участки тела, где нет возможности закрепить ацеллюлярный дермальный матрикс, во-вторых гидрогелевая основа может быть использована как

носитель для включения дополнительных лекарственных препаратов и клеточных продуктов, в-третьих, технология производства гидрогеля представляется более экономически целесообразной на основе затрат, оцененных на основе разработанного лабораторного регламента. Хотелось бы также отметить преимущества ацеллюлярного дермального матрикса, он применяется однократно, не подвергается быстрой деградации и создаёт более прочный физический барьер для раневой поверхности.

4. Провоспалительные цитокины (IL6, IL1, TNF и др.) регулирует активность фибробластов, эндотелиальных клеток сосудов и кератиноцитов, а также синтез белков внеклеточного матрикса и матриксных металлопротеиназ, которые принимают непосредственное участие в заживлении поврежденных тканей, в частности вызывают разрушение внеклеточного матрикса и его последующее ремоделирование с участием факторов роста сосудов, например VEGF, то есть, если кратко, то матриксные металлопротеиназы – это индуцирующий сигнал для активации M2 макрофагов, которые непосредственно участвуют в неоангиогенезе, выделяя соответствующие факторы.

5. Считается, что многие свойства биологических матриксов на основе внеклеточного матрикса обусловлены небольшими остатками скрытых пептидов в молекулах коллагена, которые вступают в действие после биодеградации или биосорбции исходной молекулы. Эти пептидные области называются криптопептидами, или криптопептидами. Протеолитический гидролиз белка внеклеточного матрикса высвобождает криптопептиды, которые включают ангиогенные, антимикробные, митогенные и хемотаксические свойства. Матрикины и криптопептиды могут быть получены в процессе децеллюляризации внеклеточного матрикса соединительных тканей и оказывать влияние на клеточную адгезию, форму, миграцию, пролиферацию/выживание и дифференцировку клеток при применении биопластических материалов дермы в лечении ожоговых ран.

6. Мы определяли VEGF 1 для оценки процессов ангиогенеза, TGF для оценки миграции фибробластов и коллагеногенеза, а также для оценки

активации M2 макрофагов, IGF для процессов ремоделирования внеклеточного матрикса и эпителизацию, PDGF за пролиферацию и миграцию фибробластов, интраэпителиальное отложение коллагена и образование грануляционной ткани.

7. Эксперимент проводили на свиньях так как нам было необходимо смоделировать рану большой площади, чтобы избежать краевой эпителизации при использовании разных покрытий на одном животном (в том числе рАДМ), кроме того строение кожи и поверхностные маркеры фибробластов свиней приближены к параметрам человека. В случае лечения грыж, необходимо было смоделировать соответствующее человеку давление на брюшную стенку. При исследовании гидрогеля мы руководствовались этическими принципами и экономической целесообразностью.

8. Биохимический состав кожи свиньи максимально полно соответствует коже человека, по сравнению с другими животными и данные алгоритмы можно будет применить к коже человека, а не других животных.

9. Нам было необходимо смоделировать рану большой площади, чтобы избежать краевой эпителизации при использовании разных покрытий на одном животном (в том числе рАДМ), кроме того строение кожи и поверхностные маркеры фибробластов свиней приближены к параметрам человека.

10. На данном этапе работы был создан лабораторный регламент и себестоимость затрат ниже, чем рыночная стоимость аналогов, хотя сравнивать их не совсем правильно.

На заседании 17.09.2024 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной проблемы, имеющей важное значение для развития патологической физиологии и биохимии – разработка альтернативных подходов к терапии травматических повреждений кожных покровов – присудить Мелконян К.И. ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 12 докторов наук по специальностям рассматриваемой дис-

сертации: 3.3.3. Патологическая физиология 6 докторов наук и 1.5.4. Биохимия 6 докторов наук, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя
диссертационного совета 21.2.014.02,
доктор медицинских наук
доцент

Адамчик
Анатолий Анатольевич

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02,
доктор медицинских наук
профессор

1409.24



 Лапина
Наталья Викторовна