ОТЗЫВ

официального оппонента, профессора, доктора медицинских наук Михалевой Людмилы Михайловны на диссертацию Пономаревой Юлии Вячеславовны на тему: «Оперативное лечение вентральных грыж с позиции морфологии регенеративных процессов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.17 – хирургия; 14.03.02 – патологическая анатомия.

Актуальность темы исследования

Послеоперационные вентральные грыжи передней брюшной стенки остаются нерешенной проблемой современной хирургии. Непосредственные результаты лечения большинства послеоперационных вентральных грыж, особенно больших, оставляют желать лучшего. Неудовлетворительными остаются и отдалённые результаты лечения, связанные в том числе и с повышением давления на швы ушитых ран. Так, частота рецидивов достигает 60%.

При данной патологии независимо от величины грыжевых ворот нередко имеет место контрактура боковых мышц живота, приводящая к латеральному перемещению влагалищ прямых мышц с редукцией объема брюшной полости. Для решения этой проблемы были разработаны и предложены многочисленные ненатяжные аллопластические методы, позволившие в целом, достигнуть высокой эффективности лечения, а именно: частота рецидивирования грыж в среднем снизилась до 4%. Наряду с этим в хирургии лечения грыж появилось новое направление, связанное с выполнением комбинированнных операций, сочетающих ненатяжную аллопластику с разделением мышечно-фасциальных компонентов передней брюшной стенки (components separation technique – CST). В настоящее время насчитывается более 10 методик сепараций, к сожалению, все они базируются на разработках зарубежных хирургов.

Также, на сегодняшний день дискутабельными остаются вопросы возможностей и результатов применения имплантатов, изготовленных из различных материалов, их влияние на тканевую реакцию в области интеграции при вентральных грыжах и их клинические эффекты, связанные с развитием потенциально возможных осложнений, такие как свищи, серомы, чувство инородного тела, сморщивание имплантата, нагноение, снижение фертильной функции у мужчин.

В диссертационной работе Ю.В. Пономаревой представлено комплексное решение актуальной хирургической проблемы через призму патогенетической и патоморфологической оценки регенеративных процессов в условиях грыжевой болезни и применяемых технологий ее лечения.

Новизна исследования и полученных результатов, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основная новизна исследования несомненно связана с решением актуальной хирургической проблемы – лечения больных с вентральными грыжами. Так, автором обоснован выбор различных вариантов комбинированного способа пластики при послеоперационных срединных грыжах передней брюшной стенки, паховых и рецидивных грыжах, которые позволяют не только устранить грыжу, но и выполнить реконструкцию передней брюшной стенки без натяжения. Установлено, что при использовании классических способов герниопластики, заключающихся в сшивании краев грыжевых ворот независимо от последующего места имплантации протеза, отдаленные результаты лечения сопоставимы с результатами пластик местными тканями. Обоснована клиническая эффективность вариантов пластики пахового канала комбинированным способом за счет сочетанного применения местных тканей и протеза, что позволяет устранить грыжу, выполнить пластику задней стенки пахового

канала, при показаниях - реконструкцию паховой связки и разграничить элементы семенного канатика от протеза.

Данные новые результаты, не были бы столь убедительными, если бы для их решения, автором не были бы применены методы патологической анатомии, что позволило основательно изучить проблему через оценку регенеративных процессов. Установлено, что основной проблемой, которая связана с риском неблагоприятных клинических эффектов, является несостоятельность тканей передней брюшной стенки в виде атрофии ее мышечных волокон с вакатным замещением жировой и грануляционной тканью, а также продуктивное воспаление в мышцах, по месту имплантации протеза и в отдаленных зонах. Именно продуктивное воспаление, опосредуемое как клетками, так и провоспалительными цитокинами, является причиной дифференцировки прогениторных клеток в адипоциты и фиброциты.

Основными причинами отдаленных осложнений, рецидива заболевания после протезирующих способов пластики задней стенки пахового канала является также предшествующее пластике продуктивное воспаление тканей пахового канала, обуславливающее несостоятельность паховой связки в зависимости от типа паховой грыжи, а также контакт элементов семенного канатика с протезом. Длительный контакт элементов семенного канатика с адгезивными для клеток протезов является причиной массивного фиброза и как следствие - нарушение фертильной функции у мужчин. В связи с чем следует считать полностью обоснованными предложения автора по разграничению имлантируемого протеза и элементов семенного канатика.

Экспериментально обосновано и подтверждено результатами клинического патоморфологического исследования, что способ пластики грыжевых ворот возможно отнести к ненатяжным, если он не способствует прогрессии дистрофических и воспалительных процессов в тканях передней

брюшной стенки и способствует быстрому исходу воспалительной реакции вокруг протезирующего материала в фиброз.

Научная новизна работы также заключается в предложенной автором патогенетической системе исследования биосовместимости протезирующих материалов. Для этого получены, идентифицированы и определены патогенетически значимые для биосовместимости различных протезов для герниопластики пептиды, которые могут быть рассмотрены как маркеры персонифицированного выбора протеза. Выявлено, что в пуле необратимо адсорбированных белков на поверхности различных протезов максимально представлены витронектин, фибриноген α цепь, альбумин, IgG, а также компоненты C1s и C1q системы комплемента, являющихся лигандами витронектина. Установлено, что отличия в биосовместимости протезов могут быть обусловлены только витронектином вследствие его конформационных изменений.

Разработана экспериментальная модель, позволяющая идентифицировать фенотип, изучить функциональную активность и биологические эффекты клеток, мигрирующих и адгезирующихся к поверхности титановых и полипропиленовых протезов. Так, было установлено, что полипропиленовые и титановые протезы стимулируют таксис и адгезию макрофагов, которые при контакте с их поверхностью пролиферируют, активируются и изменяют свое функциональное состояние - генерируют свободные радикалы кислорода и азота, что приводит к оксидации полипропиленовых материалов, что лежит в основе их разрушения и снижения прочных характеристик, а значит рецидиву грыжи в отдаленные сроки. Однако эти клетки также способны секретировать преимущественно Ил-10 при низких уровнях Ил-6 и Ил-1β при высоком внутриклеточном содержании про-ММР-9, незначительном-ММР-9, про-ММР-2 и ММР-2, что характеризует их как макрофаги репаративного фенотипа, способных стимулировать регенерацию и фибриллогенез. Таким образом, полипропиленовый протез способен вызывать двоякие

биологические эффекты, сдвиг которых в ту или иную сторону определяется условиями его имплантации, в данном случае имеющейся несостоятельностью тканей и фактором натяжения при их сшивании.

Данная модель позволила также объяснить механизмы таких осложнений и неблагоприятных последствий, связанных с имплантацией протезирующего материала, как свищи, оксидация волокон полипропиленовых материалов.

В методическом плане новизна работы обусловлена разработкой и применением автором комплекса клинических, экспериментальных и фундаментальных молекулярных и морфологических методов исследования, использованием современной, а для ряда экспериментов уникальной инновационной аппаратурой и методиками.

Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Представленная работа, несомненно, обладает и теоретической и практической значимостью для хирургии, которая заключается в усовершенствовании хирургической тактики при лечении больных с вентральными грыжами, что подтверждается достоверным снижением рисков развития ранних и поздних осложнений, а также разработке новых способов операции. Новые способы операции автором отнесены по совокупности признаков к передней сепарационной пластике, а их преимущество заключается в возможности выполнения реконструктивного вмешательства независимо от исходных физических параметров пациента и составляющих элементов грыжи. У пациентов с паховыми грыжами также был разработан комплекс мероприятий, направленных на усовершенствование техники операции и снижение рисков послеоперационных осложнений.

В основе значимых хирургических результатов лежит теоретическая и практическая значимость исследования для патологической анатомии. Так, на основе патоморфологической и морфометрической оценки тканей передней брюшной стенки была установлена причина несостоятельности ее тканей, которая позволяет корректно интерпретировать данные при исследовании биоптатов передней брюшной стенки, особенно у больных с рецидивными срединными послеоперационными и рецидивными паховыми грыжами, определять показания к способу закрытия грыжевых ворот, разрабатывать и оценивать эффективность новых технологий хирургического лечения грыж.

Значимость выполненного исследования также заключается в создании теоретической и практической базы для разработки новых биосовместимых протезирующих материалов, которая основывается на исследовании патогенетических механизмов и морфогенеза вентральных грыж, особенностей взаимодействия окружающих тканей с материалом при его имплантации, что лежит в основе патогенетического и персонифицированного с регенеративным подходом лечения этой патологии и отвечает новому научному направлению – регенеративная медицина.

Полученные результаты имеют конкретные точки приложения – в практической деятельности отделений общехирургического профиля, отделениях и центрах пластической хирургии.

В научно-исследовательской деятельности профильных лабораторий и научно-исследовательских институтов, занимающихся разработкой новых имплантационных материалов для медицины.

Полученные результаты уже сейчас получили внедрение в образовательный процесс при обучении врачей-специалистов по профильным специальностям.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинического, клинико-морфологического и экспериментального материалов.

Диссертантом самостоятельно был разработан дизайн исследования, экспериментальные модели, проведен анализ и интерпретация полученных данных. Работа выполнена на значительном объеме клинического материала, который представлен анализом лечения 730 больных со срединными послеоперационными вентральными грыжами, 461 – с паховыми грыжами; 108 – рецидивными послеоперационными вентральными грыжами; 184 – рецидивными паховыми грыжами. Морфологический материал представлен морфологическим и морфометрическим анализом 283 случаев вентральных грыж различных локализаций, в том числе и многократно рецидивными, а также после различных видов их оперативного лечения. Объем материала для экспериментального исследования представлен четырьмя видами протезов; образцами плазмы больных с грыжами и больных с осложнениями послеоперационного периода; значительным числом дермальных фибробластов, примененных в культуральных исследованиях in vitro; 327 крысами, используемых в 6 сериях экспериментов с последующим выделением от них цитологического и аутопсийного биоматериала для исследования последнего с применением биохимических, иммуноцитохимических, общих морфологических, морфометрических, иммунологических методов.

В целом, используемая автором методологическая база является обоснованной, при этом адекватно выбраны методы статистической оценки полученных результатов.

Следует отметить личный вклад автора на каждом из этапов выполняемой работы, включая освоение принципиально новых методов молекулярного анализа.

Результаты проведенного исследования нашли отражение в 18 публикациях в журналах по профилю специальностей из перечня ВАК, ряд из которых также цитируется в базе данных Scopus, а также доложены и обсуждены на научно-практических конференциях и съездах.

Оценка содержания диссертации

Диссертация Пономаревой Ю.В., объемом 320 страниц построена по классической схеме и состоит из введения, в котором автор кратко излагает актуальность и целесообразность рассматриваемого исследования. В актуальности темы определяются основные области исследования, согласно заявленным специальностям. В диссертационной работе автор формулирует цель, заключающуюся в обосновании клинической эффективности передней сепарационной пластики у больных с послеоперационными срединными вентральными, паховыми грыжами и их рецидивами с позиции морфологии регенеративных процессов и структурно-функциональных изменений в тканях передней брюшной стенки при имплантации биосовместимых синтетических материалов.

Для достижения цели автор формулирует 7 задач, суть которых сводится к последовательному решению проблемы лечения больных с вентральными грыжами посредством патоморфологической оценки процессов, имеющих место при этой патологии и ее хирургическом лечении.

В первой главе «Обзор литературы», где последовательно обсуждаются решенные и нерешенные проблемы лечения больных с вентральными грыжами, в частности с послеоперационными и паховыми, а также их рецидивами. Автором поставлен акцент на вопросы, связанные с такими общепатологическими процессами, как воспаление и регенерация в ракурсе

современных представлений через сложную систему взаимодействия и регуляции генов, биологических активных молекул и эффекторных клеток. При этом автором даются ссылки преимущественно на зарубежные источники литературы, что в очередной раз подчеркивает недостаточность фундаментальных исследований по этой проблеме в нашей стране. Обзор литературы завершается резюме с акцентированием на основных вопросах, решение которых предполагается в последующих главах.

Во второй главе «Материалы и методы», которая занимает достаточно большой объем, подробно изложена общая схема исследования со ссылками на место его проведения и основные регламентирующие документы. Далее подробно изложены материалы и методы, аппаратура и методики согласно выделенным автором разделами: клинический, клинико-морфологический и экспериментальный.

В третьей главе «Результаты лечения срединных послеоперационных и рецидивных послеоперационных вентральных грыж» изложены результаты лечения пациентов, согласно группам исследования. Проведен сравнительный анализ результатов лечения пациентов различными способами по критериям доказательной медицины.

В главе представлены результаты морфометрического анализа мышц передней брюшной стенки, из которого следует, что несмотря на полиморфность изменений в прямых и боковых мышцах общими закономерностями их изменений были: атрофия мышечных волокон, что подтверждено данными о снижении относительной плотности мышечной ткани, повышение относительной плотности жировой ткани, повышение относительной плотности соединительной ткани на фоне признаков продуктивного воспаления.

При анализе случаев пациентов с рецидивными вентральными грыжами отмечено, что наступление рецидива срединной грыжи после протезирующих способов, предусматривающих этап сшивания грыжевых

ворот, происходило в среднем в течение 24 месяцев. При этом вокруг волокон протезирующего материала, независимо от срока его наступления, отмечено выраженное гранулематозное воспаление, а в фиброзной ткани общей капсулы протеза - очаги дезорганизации коллагеновых волокон с образованием макрофагально-лимфоцитарных инфильтратов. Анализируемые протезирующие способы пластики грыжевых ворот при рецидивных послеоперационных вентральных грыжах, по данным проведенного анализа, не оказывали значимого влияния на степень альтерации, дистрофии и интенсивность воспалительной реакции.

В четвертой главе «Результаты лечения паховых и рецидивных паховых грыж» представлены результаты клинического лечения пациентов с данными видами вентральных грыж. Особый интерес представляют результаты патоморфологического исследования паховой связки при разных типах паховой грыжи, а также анализ изменения тканей пахового канала при рецидивных паховых грыжах.

Основной «мишенью» развивающихся патологических процессов при паховых грыжах является паховая связка. Тип паховой грыжи указывает на степень выраженности дистрофических и воспалительных изменений в ней. Так, даже при паховой грыже I типа имеет место отек межклеточного вещества паховой связки. Формирование грыж II типа сопровождается отеком, разволокнением единичных коллагеновых волокон паховой связки. При паховой грыже IIIA типа изменения в паховой связке связаны с дезорганизацией коллагеновых волокон, отеком межклеточного вещества, продуктивным воспалением. При паховой грыже IIIB типе развиваются значительные деструктивные процессы в соединительной ткани паховой связки, вплоть до некрозов с развитием продуктивного воспаления. При развитии паховой грыжи в мышцах, образующих паховый канал отмечены те же изменения, что и при послеоперационной вентральной грыже.

При анализе тканей пахового канала у больных с рецидивом грыжи после способа Лихтенштейна автором обосновано, что способ в целом не способствует значительным альтеративным и воспалительным изменениям в паховой связке. Основная проблема обусловлена интенсивным фиброзом, охватывающим не только имплантированный материал, но и ткани семенного канатика, что приводит к его деформации. Ряд авторов предлагает в связи с этим выбор протезов с антиадгезивными поверхностями, но Юлия Вячеславовна обосновывает возможность применения полипропиленовых и титановых протезов, то есть адгезивных, при условии их разграничения через сшиваемый апоневроз наружной косой мышцы живота и размещением семенного канатика в подкожно-жировой клетчатке.

Пятая глава «Результаты экспериментальных исследований» наиболее объемная по содержанию, посвящена изложению результатов экспериментов in vitro, in vivo. Ход изложения результатов соответствует уровням исследования от молекулярного, клеточного, тканевого, органного и до всего организма.

Результаты количественного протеомного анализа, полученные в первой серии экспериментов, выявили, что в пуле адгезированных белков максимально представлены: витронектин, фибриноген α цепь, альбумин, IgG, а также компоненты C1s и C_{1q} системы комплемента, являющихся лигандами витронектина.

Исследование дермальных фибробластов, культивированных в присутствии образцов протезов во второй серии экспериментов, показало, что на протяжении всего эксперимента значимых изменений их структуры ни в одной из серий не происходило. Данные ЛДГ теста подтвердили отсутствие цитотоксичности для всех исследуемых материалов.

В четвертой серии исследованы морфо-функциональные аспекты макрофагов, изменяющих свой фенотип при взаимодействии с поверхностями исследуемых протезов. Установлено, что фиксированные на

тестируемых материалах макрофаги являлись продуцентами оксида азота. За счет выявленной активности миелопероксидазы макрофагов объяснен механизм образования пероксинитрита – мощного оксиданта, вызывающего повреждение волокон в частности полипропиленовых материалов, что было связано с развитием феномена сморщивания с развитием последующего рецидива грыжи.

Тем не менее, в пятой серии экспериментов продемонстрирован регенеративный потенциал макрофагов, обусловленных их антивоспалительным фенотипом. Данный фенотип клеток способствует своевременному прорастанию протеза окружающими тканями, но действие различных факторов альтерации, в частности локального натяжения сшиваемых тканей приводит к смещению фенотипа макрофагов в сторону провоспалительного.

Пятая серия экспериментов на тканевом уровне подтверждает результаты третьей и четвертой серии и демонстрирует динамику смен стадий альтерации, воспалительной реакции и ее исхода в фиброз. Автор выделяет ключевые морфологические критерии, по которым верифицируется каждая из стадий регенеративного процесса после имплантации различных материалов. Следует обратить внимание, что в этом серии экспериментов автор объясняет механизм образования свищей, с которым возможно в целом согласиться.

Шестая серия экспериментов в целом повторяет и подтверждает результаты ранее проведенных исследований другими авторами по моделированию грыжи, однако возможно выделить некоторые особенности, которые заключаются в том, что в тех мышцах, которые участвуют в образовании грыжи имеет место вакатный липоматоз, а в мышцах антагонистах явления липоматоза выражены меньше, при этом происходит разрастание рыхлой неоформленной соединительной ткани. Подчеркивается ведущая роль макрофагов в этих процессах.

Результаты седьмой и восьмой серии экспериментов подтверждают гипотезу автора о влиянии натяжения сшиваемых при пластике грыжи тканях на течение регенеративных процессов. Подчеркивается, что именно персистирующая воспалительная реакция вокруг протеза является признаком локального натяжения тканей, которая сдерживает образование волокнистого компонента соединительной ткани, а, следовательно, интеграцию протеза. При выполнении реконструкции передней брюшной стенки без натяжения ее регенерация и интеграция протеза возможны только путем субституции.

Пятую главу завершает резюме с кратким изложением результатов о проделанной работе.

Шестая глава «Заключение» представляет собой краткое изложение всего исследования – от дизайна исследования, материалов и методов до полученных результатов. Также представленные результаты сопоставлены с современными литературными данными, преимущественно зарубежными.

Сформулированные в диссертации выводы и практические рекомендации логично вытекают из сформулированных автором задач и результатов исследования.

Содержание представленного автореферата полностью соответствует содержанию диссертации, а также ее основным положениям и выводам.

Принципиальных замечаний к автореферату и диссертации нет.

Заключение

Диссертационная работа Пономаревой Юлии Вячеславовны «Оперативное лечение вентральных грыж с позиции морфологии регенеративных процессов» является научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение важной научной проблемы - выбора способа оперативного лечения больных с грыжами живота; изложены новые научно обоснованные решения исследования особенностей регенеративных

процессов при применении различных протезов для герниопластики, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие страны.

Актуальность проблемы, объем проведенного исследования, новизна полученных результатов, практическая значимость работы соответствуют требованиям п. 9 Положения о присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 года), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук.

Руководитель лаборатории клинической морфологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
морфологии человека»,
доктор медицинских наук (14.03.02 – патологическая анатомия),
профессор Михалева Людмила Михайловна

Подпись д.м.н., профессора Л.М. Михалевой заверяю:

Ученый секретарь
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
морфологии человека»,
доктор медицинских наук Михайлова Лилия Петровна

«13» мая 2018г.

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3
тел.: (499) 120 00 41
morfolhum@mail.ru