

### **Отзыв официального оппонента**

доктора медицинских наук, заведующего кафедрой детской хирургии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, член-корреспондента РАН, профессора Разумовского Александра Юрьевича на диссертационную работу Хасанова Расуля Ринатовича на тему: «Экспериментально-клиническое обоснование новых стратегических подходов лечения детей с синдромом короткой кишки», представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.11. (14.01.19) – детская хирургия

#### **Актуальность темы исследования**

Диссертация Хасанова Расуля Ринатовича посвящена решению актуальной проблемы детской хирургии – лечению сложной категории больных – пациентов с синдромом короткой кишки. Синдром короткой кишки является тяжёлым хроническим заболеванием с высокой инвалидизацией, смертностью и подразумевает значительное ресурсное и финансовое обеспечение. Целью лечения таких пациентов является наиболее ранний отказ от парентерального питания и восстановление полного энтерального питания. Данные литературы показывают, что пятилетняя выживаемость у детей с синдромом короткой кишки, которые в течение 2,5 лет перешли на полное энтеральное питание составила 95%, тогда как среди детей, находившихся только на парентеральном питании, составила лишь 52%. Среди различных видов хирургического лечения таких пациентов наиболее активно используют удлиняющие кишечник операции. Однако, проблема лечения данной патологии ещё далека от своего окончательного решения, о чём свидетельствует недостаточный процент

восстановления полного энтерального питания у больных (45-70%) и высокая частота послеоперационных осложнений. До сих пор малоизученными остаются патоморфологические изменения мышечных слоёв тонкой кишки и нервной системы кишечника при синдроме короткой кишки. Не изучена эффективность методов лучевой диагностики у пациентов с синдромом короткой кишки. Не систематизированы показания и противопоказания к конкретному типу удлиняющих кишечник операций. В литературе дискутируется, но чётко не определены, факторы, влияющие на отказ от парентерального питания после хирургического лечения. На фоне того, что у ряда пациентов современные терапевтические и хирургические методы лечения синдрома короткой кишки не эффективны, а трансплантация кишечника даёт неудовлетворительные результаты, перспективным направлением лечения является тканевая инженерия тонкой кишки, которая может стать инновационным методом лечения таких пациентов. В литературе имеются работы, где описаны хорошие результаты по выращиванию тонкокишечного эпителия, однако, нет исследований, в которых были бы выращены иннервированные мышечные слои, содержащие компоненты нервной системы кишечника и способные к сокращениям. Учитывая все изложенные аспекты, представленная диссертационная работа имеет значительную актуальность для детской хирургии.

**Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором выполнен глубокий анализ литературных данных: описаны патоморфологические изменения в тонкой кишке при синдроме короткой кишки, рассмотрены современные подходы к диагностике и лечению синдрома короткой кишки, а также уровень развития тканевой инженерии тонкой кишки на современном этапе.

Диссертационная работа включает четыре клинических, и два экспериментальных исследования. Достоверность результатов и обоснованность научных положений определена достаточным клиническим материалом и использованием современных методов исследований и статистической обработки. Экспериментальные исследования проводились с использованием сертифицированных расходных материалов и приборов, с применением во всех иммуногистологических исследованиях негативного контроля, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов, статистической обработки данных. Выбор статистических методов анализа адекватный.

Название диссертации сформулировано достаточно лаконично и отражает суть работы. Задачи исследования, поставленные автором, конкретны, способствуют достижению поставленной цели и решены в полном объёме.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научная новизна заключается в том, что автором выявлены морфофункциональные закономерности адаптационной трансформации мышечных слоёв и нервной системы кишечника при синдроме короткой кишки. Впервые в эксперименте на животных установлено, что при синдроме короткой кишки увеличивается доля стволовых клеток в межмышечных нервных сплетениях и мышечных слоях тонкой кишки. Исследования биоптатов тонкой кишки у пациентов с синдромом короткой кишки подтвердили данные экспериментов на животных. Морфологически обоснована целесообразность проведения удлиняющих кишечника операции у детей с синдромом короткой кишки. Впервые определена роль гидро-МРТ при исследовании тонкой кишки при синдроме короткой кишки у детей, как наиболее информативного неинвазивного метода диагностики. Определены и систематизированы показания и противопоказания к удлиняющим кишечника операциям. Показано, что наличие

более половины сохранённой толстой кишки у пациента с СКК статистически достоверно уменьшает сроки восстановления энтерального питания у детей с данной патологией. Впервые в эксперименте разработан метод выращивания энтерального нервного сплетения и иннервированного мышечного слоя тонкой кишки, способного к сокращениям в трёхмерной среде и экспериментально обоснована целесообразность совместного культивирования гладкомышечных клеток и клеток нервной системы кишечника для создания иннервированного мышечного слоя, способного к перистальтике. Экспериментально обосновано, что тканевая инженерия тонкой кишки является перспективным направлением лечения пациентов с синдромом короткой кишки в будущем.

### **Значимость результатов для науки и практики**

Диссертационная работа обладает научной теоретической и практической значимостью. Автором установлено, что дилатация и гипертрофия мышечных слоёв тонкой кишки при синдроме короткой кишки являются результатом кишечной адаптации и развиваются у всех пациентов, тем самым, обоснована необходимость регулярного обследования тонкой кишки у пациентов с синдромом короткой кишки с интервалом в 6 месяцев. Внедрено в клиническую практику применение комплекса лучевых методов исследования тонкой кишки, что позволяет своевременно диагностировать дилатацию тонкой кишки более 5 см, выявить стенозы тонкой кишки и установить показания к применению удлиняющих кишечник операций. Определено, что гидро-МРТ является наиболее чувствительным методом, позволяющим определить дилатацию, длину тонкой кишки и идентифицировать стенозы тонкой кишки при синдроме короткой кишки. На основании сравнительного анализа определены и систематизированы показания и противопоказания к удлиняющим кишечник операциям. Определены положительные прогностические факторы для восстановления полного энтерального питания после удлиняющих кишечник

операций: длина тонкой кишки, наличие илеоцекального клапана, наличие не менее половины толстой кишки и отсутствие редилатации (повторной дилатации) тонкой кишки. Разработаны методы выращивания энтерального нервного сплетения и иннервированного мышечного слоя тонкой кишки, которые закладывают основы для создания биониженерной тонкой кишки, способной к перистальтическим сокращениям, что является новым стратегическим подходом лечения пациентов с СКК.

### **Структура и содержание диссертационной работы, основные результаты**

Диссертация изложена на 256 страницах машинописного текста и имеет традиционное построение, состоит из введения, 9 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 394 источника, в том числе зарубежных – 314.

**Во введении** автор обосновывает актуальность диссертационной работы, формирует её цель, задачи, научную новизну и практическую значимость.

**В первой главе «Обзор литературы»** проведён анализ литературных данных. Описано понятие синдрома короткой кишки у детей и современный взгляд на изучаемые проблемы: этиологию, эпидемиологию, летальность, социально-экономические аспекты, диагностику, лечение и прогноз синдрома короткой кишки. Описаны особенности патоморфологии стенки тонкой кишки при данном заболевании. Описана нервная система кишечника и её роль в адаптации кишечной стенки. Детально охарактеризовано современное состояние тканевой инженерии тонкой кишки и выявлены аспекты, требующие дальнейшего изучения. Литературный обзор разбит на отдельные подглавы, каждая из которых посвящена соответствующим разделам, которые рассматриваются в диссертации. Обзор написан хорошим литературным языком, основан на достаточном числе литературных источников.

**Во второй главе «Материалы и методы»** приведён дизайн исследования, подробно описаны материалы клинических и экспериментальных исследований. Подробно описаны методики двух экспериментальных исследований. В первом экспериментальном исследовании изучалась кишечная адаптация в мышечных слоях и нервной системе кишечника при синдроме короткой кишки на модели крыс. Во втором экспериментальном исследовании выращивались межмышечное нервное сплетение и иннервированные мышечные слои тонкой кишки в трёхмерном матриксе *in vitro*, пригодные для тканевой инженерии кишечника. В этой главе так же описывались методики окраски препаратов и типы использовавшихся микроскопов.

Клинические исследования выполнялись у 54 пациента с синдромом короткой кишки, которым проводились удлиняющие кишечник операции. Отдалённые результаты изучались у 42 пациентов, а эффективность лучевых методов исследования - у 8 пациентов с синдромом короткой кишки. Патоморфологические изменения в биоптатах тонкой кишки изучались у 4 пациентов с синдромом короткой кишки и 4 пациентов без синдрома короткой кишки.

**В третьей главе** подробно представлены результаты первого экспериментального исследования, выполненного на крысах. Полученные результаты показали, что дилатация и тонкой кишки и гипертрофия её мышечных слоёв при синдроме короткой кишки связана с кишечной адаптацией. Нервная система в кишечнике активирует свой нейрогенный потенциал посредством нервных стволовых клеток и, тем самым, участвует в адаптации кишечника. Эти изменения являются результатом кишечной адаптации, патофизиологичны для синдрома короткой кишки. Проведённый анализ Спирмена показал положительную корреляцию, между долей стволовых клеток в межмышечных нервных сплетениях и гипертрофией гладких мышц.

**В четвёртой главе** представлено исследование процессов кишечной адаптации в нервной системе кишечника у пациентов с синдромом короткой кишки на основе изучения биоптатов тонкой кишки. Полученные результаты показали, что у пациентов с синдромом короткой кишки происходит увеличение количества стволовых клеток в межмышечных нервных сплетениях, что коррелирует с результатами, полученными при экспериментах на животных.

**Пятая глава** посвящена изучению эффективности лучевых методов исследования для измерения длины и диаметра (дилатации) тонкой кишки, а также при выявлении стенозов кишечника у пациентов с синдромом короткой кишки. Изучались УЗИ, рентген-контрастное исследование и гидро-МРТ органов брюшной полости. Была определена роль каждого из этих методов исследования при обследовании пациентов с синдромом короткой кишки.

**Шестая глава** посвящена хирургическому лечению синдрома короткой кишки при помощи удлиняющих кишечник операций (продольное кишечное удлинение и сшивание (LILT) и последовательная поперечная энтеропластика (STEP)). Описаны предоперационная подготовка и послеоперационное ведение пациентов. Проанализированы непосредственные результаты хирургического лечения. Исследованы осложнения, потребовавшие проведения релапаротомии, в раннем и отдалённом периодах после хирургического лечения. Были изучены повторные удлиняющие операции и летальность. На основании полученных в данной главе результатов были определены и систематизированы показания и противопоказания к удлиняющим кишечник операциям.

**В седьмой главе** у 42 пациентов исследовались факторы, влияющие на нутритивную поддержку (применение парентерального питания) после удлиняющих кишечник операций в отдалённом периоде. Исследовалось влияние первоначального заболевания, по поводу которого была проведена резекция тонкой кишки, типа удлиняющей операции, остаточной длины тонкой кишки, наличия илиоцекального клапана, наличие толстой кишки и редилатации тонкой

кишки на зависимость от парентерального питания. Применённый в данной главе анализ по Каплан-Майеру позволил детально изучить влияние вышеописанных факторов на отказ от парентерального питания с течением времени.

**Восьмая глава и девятая главы** посвящены экспериментальному обоснованию применения тканевой инженерии тонкой кишки как нового стратегического подхода лечения пациентов с синдромом короткой кишки.

**В восьмой главе** описывается разработка метода культивирования клеток нервной системы кишечника в трёхмерной среде, обладающих способностью формировать нервные сплетения. В этой главе рассматриваются результаты выращивания культуры клеток нервной системы кишечника в трёхмерном матриксе. Описываются результаты микроскопии живых клеток при помощи светового микроскопа, а также фиксированных клеток, окрашенных маркером нейронов ( $\beta 3$ Tubulin) при помощи конфокального микроскопа. Полученные результаты необходимы для создания нервной системы кишечника при выращивании стенки тонкой кишки путем тканевой инженерии.

**В девятой главе** разработан метод выращивания иннервированного мышечного слоя тонкой кишки *in vitro*, способного к сокращениям, а так же изучены взаимосвязи между энтеральной нервной системой и гладкомышечными клетками в полученной биоинженерной мышечной ткани. В этой главе были определены оптимальные условия совместного выращивания клеток нервной системы кишечника и мышечных клеток. При выращивании из культуры клеток в трёхмерном матриксе были получены мышечные волокна, обладающие сократительной активностью. Просвечивающая электронная микроскопия показала, что выращенные в данном эксперименте мышечные волокна гистологически имеют сходное строение с гладкомышечными волокнами кишечника. Клеточные культуры были окрашены маркером нейронов ( $\beta 3$ Tubulin), маркером гладкомышечных клеток (smooth muscle actin (SMA)) и исследованы при помощи конфокальной микроскопии. Было доказано, что



совместное культивирование энтеральных нейронов и мышечных клеток при правильном их расположении в трёхмерном матриксе делает возможным создание иннервированного мышечного слоя, способного к сокращениям.

**Заключение** резюмирует результаты исследования. Здесь так же проводится сравнение собственных результатов, полученных в данной диссертационной работе с данными, приведёнными в отечественной и зарубежной литературе. Из заключения закономерно вытекают выводы.

**Выводы** сформулированы чётко, полностью отражают результаты, полученные автором, соответствуют содержанию работы и поставленным задачам.

**Практические рекомендации** чёткие, структурированные, доказательно обоснованные.

**Автореферат** полностью отражает содержание диссертации. Замечаний по нему нет.

#### **Сведения о полноте опубликованных научных результатов диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 28 научных работ, в том числе, 16 публикаций в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации (в журналах, входящих в перечень ВАК, индексированных базах данных Scopus и Web of Science). Изданы 2 федеральные клинические рекомендации, одна рецензируемая монография (глава в книге) на английском языке, опубликованная в издательстве Springer (Швейцария) и индексированная в международной базе данных Scopus.

#### **Замечания по содержанию и оформлению диссертации**

Принципиальных замечаний по методологии исследования, изложению материала, выбору методов исследования, результатам и выводам, а также по оформлению диссертации и автореферата нет.

В тексте диссертации и автореферата, в том числе в двух таблицах встречаются единичные орфографические ошибки, опечатки и стилистические неточности. Однако указанные замечания не носят принципиального характера и не уменьшают ценности проведённого научного исследования.

При ознакомлении с диссертацией Хасанова Расуля Ринатовича в порядке дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

1. В главе 6 Вы систематизировали показания и противопоказания к удлинению кишечника операциям. Не могли бы вы описать алгоритм действий при принятии решения какую удлиняющую кишечника операцию необходимо провести пациенту?
2. В главах 8 и 9 вы описали методику получения иннервированного мышечного слоя тонкой кишки, что является важным этапом в тканевой инженерии кишечника. Назовите пожалуйста следующую ключевую задачу тканевой инженерии, которую необходимо решить для применения данной технологии в клинической практике?

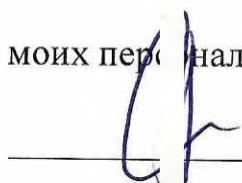
**Заключение** Таким образом, диссертация Хасанова Расуля Ринатовича на тему: «Экспериментально-клиническое обоснование новых стратегических подходов лечения детей с синдромом короткой кишки», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.11. (14.01.19) – детская хирургия, является самостоятельной, законченной, научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная проблема – улучшение результатов диагностики и хирургического лечения детей с синдромом короткой кишки, а так же обоснование инновационных стратегических подходов лечения детей с данной патологией. По своей актуальности, методическому уровню, объему исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов

диссертационная работа Хасанова Расуля Ринатовича соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а автор диссертационной работы Хасанов Расуль Ринатович заслуживает присуждения учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.11. (14.01.19) – детская хирургия.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой детской хирургии  
Федерального государственного автономного образовательного учреждения  
высшего образования "Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва),  
доктор медицинских наук (3.1.11 (14.01.19) – детская хирургия),  
профессор, член- корреспондент АН

Согласен на обработку моих персональных данных



Разумовский Александр Юрьевич

3.09.2021г

Подпись профессора Разумовского Александра Юрьевича заверяю:  
Ученый секретарь ученого совета  
Федерального государственного автономного образовательного учреждения  
высшего образования "Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва),  
кандидат медицинских наук, доцент

Ольга Михайловна Дёмина  
Федерального государственного автономного образовательного учреждения  
высшего образования "Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

Дёмина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7(495)434-03-29, электронная почта: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru), сайт организации: <https://rsmu.ru>