



МИНЗДРАВ РОССИИ
федеральное государственное
образовательное учреждение высшего
образования «Омский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России)
ул. Ленина, д. 12, г. Омск, 644099
т. (3812) 957-001, ф. (3812) 957-002
E-mail: rector@omsk-osma.ru
ОКПО 01963321 ОГРН 1035504001500
ИНН/КПП 5503018420/550301001

03.01.2025 № 1746
На № _____ от _____

ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Баринова
Сергея Владимировича на диссертационную работу Пекаревой Евгении
Олеговны на тему «Клинико-экспериментальное обоснование применения
клеточных технологий после абдоминального родоразрешения»,
представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук
по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология**

Актуальность темы исследования

Перинатальная направленность современного акушерства привела к увеличению частоты оперативного родоразрешения. По данным мировой литературы, каждая четвертая беременная родоразрешается путем кесарева сечения, которое, как и любое полостное хирургическое вмешательство, имеет высокий риск осложнений и самых неблагоприятных последствий для женского здоровья и жизни. Отличительной особенностью современного акушерства стало увеличение числа повторных операций кесарева сечений, показанием к которым более чем в 70% наблюдений является рубец на матке. Естественные роды после оперативных – акушерско-гинекологическое явление, приобретающее все большую значимость среди специалистов и все большую востребованность среди женщин. А современные достижения акушерства и гинекологии опровергают ранее столь распространенное правило «одно кесарево сечение – всегда кесарево сечение». Однако остроту проблемы подчеркивают дискуссии о

высоком риске разрыва матки по рубцу, ведь до сих пор сложно точно определить, какой рубец будет состоятельным во время родов через естественные родовые пути. Основным методом диагностики рубца на матке после КС в настоящее время является ультразвуковой, а во время беременности он остается практически единственным доступным методом обследования. Именно поэтому назрела острая необходимость поиска новых методов улучшения процессов репарации миометрия после абдоминального родоразрешения. Для ускорения заживления разреза на матке исследуются такие подходы, как лучевая терапия, криотерапия, хирургическое иссечение, местное или внутривлагалищное введение кортикостероидов, а также комбинация с другими адъювантными местными препаратами. Но особый интерес для современной науки представляют репаративные свойства стволовых клеток и продуктов их секрета. Данные биологически активные субстанции обладают способностью стимулировать пролиферацию клеток, индуцировать миграцию стволовых клеток, улучшать репарацию ткани, а также уменьшать воспаление и боль. Успешное применение их в акушерской практике позволит решить проблему неполноценности и несостоятельности рубца миометрия, повысить частоту самопроизвольных родов с рубцом на матке, снижая риски связанных с повторным абдоминальным родоразрешением осложнений.

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

Научно-квалифицированная работа Е.О. Пекаревой представляет собой самостоятельное научное исследование, выполненное на большом экспериментальном и клиническом материале и высоком методологическом уровне, в которое были вовлечены 342 лабораторных животных и 790 беременных и рожениц. Исследование проводилось в соответствии с принципами доказательной медицины. Материалы исследования строго документированы, иллюстрированы микрофотографиями, демонстрируют объективность и достоверность результатов. Обоснованность научных положений определяется адекватным планированием и проведением исследования, репрезентативной выборкой обследованных, использованием методов математической статистики. Выводы логически вытекают из материалов исследований, в полном объеме отражают поставленные задачи. Практические рекомендации, сформулированные в

диссертации, обоснованы и могут служить руководством в практической работе.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

На основании проведения экспериментального исследования для оценки длительности пребывания экзосом в исследуемых тканях была создана экспериментальная модель кесарева сечения у лабораторных животных, доказана эффективность и безопасность применения.

Научная новизна настоящего исследования основана на том, что исследователем впервые клинически обоснована и применена в акушерской практике методика интраоперационного введения 500 мкл экзосом мезенхимальных стволовых клеток. Проведенным сочетанным анализом структурной организации тканей миометрия лабораторных животных и родильниц с оперированной маткой после абдоминального родоразрешения в условиях применения экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения установлено их благоприятное влияние на репаративные процессы. Автором морфологически обоснованы критерии формирования полноценного рубца миометрия после применения клеточных технологий, а также предложен алгоритм распределения пациенток на группы с наличием и отсутствием условий и желания самопроизвольных родов с рубцом на матке. Пациентки, настроенные на самопроизвольные роды с рубцом, после введения им экзосом МСК в 71,4% случаев успешно рожали самопроизвольно.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Проведенное Е.О. Пекаревой клинико-экспериментальное исследование позволило дополнить и расширить знания о роли применения клеточных технологий для решения вопросов репарации миометрия после абдоминального родоразрешения. Предложена не только перспективная методика интраоперационного введения экзосом МСК, но и последующий алгоритм обследования таких пациенток для оценки состояния рубца на матке с целью прогнозирования возможности ведения у них родов самопроизвольно с помощью следующих методов визуализации: УЗИ, МРТ, гистероскопия. Представлен алгоритм и методика интраоперационного введения 500 мкл экзосом МСК пуповинного происхождения всем первородящим пациенткам с отсут-

ствием противопоказаний для самопроизвольных родов и мотивированных на повторную реализацию репродуктивной функции для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений. Это убедительно подтверждено данными об уменьшении длительности пребывания рожениц в стационаре, ввиду отсутствия у них лейкоцитоза в общем анализе крови, отсутствии повышения уровня СРБ, а также благоприятной для послеродового периода ультразвуковой картиной полости матки. Приведены морфологические данные, подтверждающие лучшие характеристики миометрия в области послеоперационного рубца после введения экзосом в анамнезе по сравнению с пациентками без применения клеточных технологий. Автором представлен подробный план ведения самопроизвольных родов с рубцом на матке на фоне клеточных технологий, даны рекомендации о возможности преиндукции родов, необходимости динамического контроля толщины миометрия нижнего сегмента, обоснованы рекомендации о выжидательной тактике ведения второго периода родов. Целесообразность ведения родов через естественные родовые пути у женщин, которым в ходе предшествующего кесарева сечения проводилось введение экзосом МСК, по сравнению с беременными без экзосомной поддержки, обоснована 71,4% успешных родов самопроизвольно.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Результаты диссертации могут быть использованы в широкой сети акушерских и гинекологических стационаров, женских консультаций, а также в учебном процессе на соответствующих кафедрах медицинских ВУЗов.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 191 странице формата А4 текста компьютерного набора, включает 21 таблицу, 59 рисунков и микрофотографий. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 241 источником, из которых 170 в зарубежных изданиях.

Глава «**Введение**» начинается с обсуждения актуальности выбранной проблемы, а именно роста частоты кесарева сечений в РФ и связанных с этой операцией ослож-

нсий. В ней отображается степень разработанности темы диссертационного исследования в мире, predeterminedена цель работы и сформулированы задачи по ее реализации, подтверждена правомочность научной новизны, теоретической и практической значимости, изложенных положений, выносимых на защиту. Приведены данные личного вклада автора, которым самостоятельно выполнен большой комплекс запланированных методов исследования как на экспериментальном, так и клиническом этапе, включая проведение оценки течения беременности и родов, материнских и перинатальных исходов, выполнение УЗИ и гистероскопии, статистическая обработка данных, интерпретация и опубликование основных результатов диссертационного исследования. Автор также выражает благодарность за научно-методическую помощь и консультации.

В главе 1 «Обзор литературы» Пскарева Е.О. последовательно отражает глобальную стратегию снижения частоты повторного абдоминального родоразрешения и связанных с ним серьезных осложнений, таких как расползание рубца, разрыв матки, гнойно-септические осложнения, тромбоэмболические осложнения, материнская смертность. Приведены данные эффективности или неэффективности внедрённых стратегий по решению этой проблемы. Автор поднимает вопросы механизмов формирования неполноценного рубца на матке и других возможных причин, приводящих к ее разрыву, таких как несвоевременно купированный клинически узкий таз, гидроцефалия, миома матки, затяжные роды. В эту же группу риска автор относит много рожавших пациенток, женщин после многочисленного прерывания беременности, после послеабортных и/или послеродовых метростенометритов. Большое внимание уделено классификации разрывов матки и их симптомам во время течения беременности и родов, а также верификации состояния миометрия в области рубца и признаков его неполноценности, и необходимости поиска причин и способов профилактики такого грозного осложнения. Одним из таких способов в настоящее время является применение клеточных технологий, а именно стволовых клеток разного происхождения и продуктов их секрета, таких как экзосомы. Они богаты мРНК, miR, ДНК, а также протеинами и липидами, и способны в определенной мере перепрограммировать клетку-реципиент и изменить ряд ее функций, оказывая положительный эффект на процессы репарации.

В главе 2 детально описаны материалы и методы клинических исследований, в

полной мере отражена характеристика объектов исследования, детально описаны методы обследования лабораторных животных на экспериментальном и женщин на клиническом этапе исследования, приведен анализ полученных данных. Все без исключения методы диагностики, выбранные автором, являются современными, высокоинформативными, позволяют получить результаты, реализующие все поставленные задачи. Дизайн исследования состоял из 1 экспериментального и 3 клинических этапов, включающих ретроспективную и проспективную предгравидарную оценку состояния рубца на матке после предшествующего кесарева сечения, а также критерии включения и исключения из исследования.

В главе приведена подробная методика получения культуры мезенхимальных стромальных клеток пуповины человека и экзосом из них. Поэтапно описано и иллюстрировано создание экспериментальной модели кесарева сечения у лабораторных животных с последующим введением им 50 мкл экзосом МСК. С помощью методов микроскопии приведены данные о длительности пребывания экзосом в исследуемых тканях. Клиническую часть исследования составили 790 беременных и рожениц, родоразрешенных в 2014-2022 г.г. в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре. Автором подробно описаны группы пациенток и инструментальные методы их обследования, охарактеризованы методы статистической обработки данных.

В главе 3 представлены экспериментальные данные введения экзосом лабораторным животным, которые позволили обосновать возможность их дальнейшего применения в акушерской практике. Безопасность введения экзосом была обоснована отсутствием летальности в основной группе, эффективность – меньшим числом мертворождений и большим числом помета у исследуемых животных. С помощью методов морфоспектрометрии были оценены длительность пребывания и место распределения экзосом как в интактных тканях, так и после создания рубца на миометрии. Автор отмечает, что на фоне моделирования кесарева сечения экзосомы мезенхимальных стромальных клеток в некоторых случаях присутствуют в матке в большем количестве, чем после введения в интактный орган, что может быть связано с блокадой микроциркуляции крови и лимфотока при воспалении, сопровождающем

хирургическое вмешательство.

Глава 4 представлена двумя большими разделами, демонстрирующими результаты собственных клинических исследований. Первый из них посвящен подробному ретроспективному анализу 600 пациенток, родоразрешенных путем операции кесарева сечения в экстренном и плановом порядке. Дана характеристика включенных в исследование пациенток, проведена оценка показаний к абдоминальному родоразрешению, изучены особенности течения беременности и послеродового периода, особое внимание уделено таким осложнениям, как эндометрит и лохиометра. Поскольку женщины, которым проводился ретроспективный анализ родоразрешения и течения послеоперационного периода, планировали повторные беременности, у 240 пациенток проведено УЗИ, у 60 МРТ, у 40 - гистероскопия через 6 месяцев после предыдущего кесарева сечения с целью оценки толщины и полноценности миометрия в области рубца. При этом практически у каждой четвертой пациентки были выявлены признаки неполноценности рубца.

Следующий раздел главы посвящен уже проспективному анализу течения беременности и родов у 160 пациенток, 60 из которых (основная группа) впервые в акушерской практике интраоперационно было введено 500 мкл экзосом. Контрольную группу составили 100 женщин с рубцом на матке без применения клеточных технологий, но со стойкой мотивацией на самопроизвольные роды с рубцом. Структура показаний для первого абдоминального родоразрешения у пациенток основной группы и группы сравнения значимо не отличалась согласно проведенному анализу. Как и у 600 беременных и рожениц, которые подверглись ретроспективному анализу, у всех 160 пациенток групп проспективного контроля абдоминальное родоразрешение проведено в условиях эпидуральной анестезии с проведением однократной интраоперационной антибактериальной профилактики. Среди пациенток с экзосомной поддержкой и рожениц, которым интраоперационно не вводились ЭМСК, не выявлено значимых различий ни по времени оперативного вмешательства, ни по объему интраоперационной кровопотери. Не было выявлено достоверно значимых различий и по продолжительности I периода родов. Особого внимания заслуживают достоверные различия в меньшей продолжительности пребывания рожениц основной группы в

акушерском стационаре, что обосновано более низким уровнем СРБ в сыворотке крови - 3,4 (1,44) мг/л, содержанием лейкоцитов в периферической крови - 10,9 (1,79) $\times 10^9$ /л на момент выписки $P_{1-2} = 0,03$ и с ускоренной инволюцией матки.

50 пациенткам с предшествующей экзосомной поддержкой и 60 пациенткам из группы сравнения, которым проводилось традиционное ведение послеродового периода, проведено МРТ и УЗИ через 6 месяцев после предыдущего кесарева сечения. У пациенток основной группы – признаков неполноценности рубца и феномена «ниши» не обнаружено ни по данным УЗИ, ни по результатам МРТ, что было подтверждено и в ходе проведения им офисной гистероскопии. При этом у 14/60 (23,3 %), т.е. практически у каждой четвертой пациентки 2-й группы (сравнения), визуализировались признаки неполноценности рубца. Результаты данных инструментальных исследований позволили с высокой долей вероятности предлагать пациенткам, которые желали повторно реализовать свой репродуктивный потенциал после введения экзосом, самопроизвольное родоразрешение.

Глава 5 детально отражает результаты ведения родов у пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения самопроизвольно. Автором показаны заключительные результаты клинического применения экзосом МСК и оценки эффективности их введения в виде данных об успешном родоразрешении пациенток основной группы через естественные родовые пути в 71,4 % случаев, что в 3,5 раза выше по сравнению с группой контроля и пациентками из группы ретроспективного анализа. Всем пациенткам в течение I периода родов проводилось динамическое УЗИ толщины миометрия нижнего сегмента в проекции рубца, результаты которого сопоставлялись с измерениями толщины миометрия нижнего сегмента у пациенток с интактной маткой. Автор предоставляет данные о том, что у пациенток, которым в ходе первого КС не применялись клеточные технологии, миометрий оставался достоверно тоньше на протяжении всего I периода родов как по сравнению с пациентками основной группы, так и с женщинами с интактной маткой.

При анализе структуры показаний для повторного кесарева сечения было выявлено, что 2/6 (33,3%) беременные из 1 группы (основной) были абдоминально родоразрешены, ввиду отсутствия биологической готовности шейки матки при доношен-

ном сроке беременности и 4/6 (66,7%) роженицы основной группы – по поводу слабости родовой деятельности, не поддающейся медикаментозной коррекции и острой внутриутробной гипоксии плода. Поскольку 6/21 (28,6%) пациенткам I группы (основной) и 16/20 (80%) второй группы (сравнения) не удалось избежать повторного абдоминального родоразрешения, всем этим родильницам было проведено патоморфологическое исследование биоптатов иссеченных рубцов и участков нижнего сегмента матки, по результатам которого у пациенток, с примененными клеточными технологиями, была отмечена меньшая численная плотность нейтрофилов и дегенерирующих клеток, а также склерозированных сосудов, что и позволило считать их рубец полноценным.

Глава 6 «Обсуждение полученных результатов» погружает читателя в размышления автора, демонстрирует логику интерпретации полученных данных. Особого внимания заслуживает обоснование дизайна исследования в ракурсе современных общемировых тенденций, систематизация особенностей течения послеродового периода у пациенток с рубцом на матке, причин формирования неполноценности миометрия в проекции рубца, способов улучшения репарации миометрия с целью снижения необходимости повторного абдоминального родоразрешения и профилактики связанных с ним акушерских осложнений. Представлен аналитический подраздел, отражающий мнение автора и коллег касательно целесообразности применения клеточных технологий в клинической практике акушера-гинеколога как нового и эффективного метода улучшения репаративных свойств миометрия, ведь ресурс имеющихся способов повлиять на структуру миометрия исчерпан.

Объем данного диссертационного исследования достаточен. Результаты статистической обработки материала достоверны и делают выводы и практические рекомендации обоснованными. Поставленная цель и задачи исследования соответствуют полученным результатам диссертационного исследования.

В **Заключении** отражены основные положения диссертации и подтверждена необходимость применения ЭМСК в акушерской практике после абдоминального родоразрешения с целью снижения частоты гнойно-септических осложнений в по-

послеродовом периоде, а также с целью повышения возможности самопроизвольного родоразрешения пациенток с рубцом на матке.

Выводы соответствуют поставленным задачам и представленным результатам диссертационной работы, из которых вытекают практические рекомендации по применению экзосом мезенхимальных стромальных клеток.

По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, в том числе 12 статей – в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов исследования, рекомендованных ВАК РФ, 3 - в международных изданиях, включенных в систему Web of Science или Scopus.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В целом, диссертация Некарева Г.О. является самостоятельным и законченным научным исследованием. Автореферат в полной мере соответствует основным положениям диссертации и отражает ее наиболее существенные положения, выводы и практические рекомендации. В опубликованных работах полностью отражены все положения диссертации. Основная позиция автора представленного исследования является понятной и обоснованной, поэтому принципиальных замечаний не имею. Замечаний к работе по содержанию и оформлению нет. В то же время считаю необходимым в плане дискуссии задать вопросы по выполненной работе:

1. По Вашему мнению, понятия несостоятельный и неполноценный рубец на матке равнозначные?
2. При выполнении абдоминального родоразрешения в исследуемых группах проспективного этапа квалификация хирургических бригад была сопоставима?
3. Каким образом проводился расчет дозы интраоперационного введения 500 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток?
4. С чем Вы связываете высокий процент показаний к проведению кесарева, связанных выпадением петель пуповины?
5. Обоснуйте патогенетический механизм действия экзосом мезенхимальных стромальных клеток на снижение частоты гнойно-септических осложнений в послеродовом периоде у родильниц после кесарева сечения?

Заключение.

Диссертационная работа Пекаревой Е.О. на тему: «Клинико-экспериментальное обоснование применения клеточных технологий после абдоминального родоразрешения» является завершённой научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной для акушерства и гинекологии научной проблемы, связанной со снижением повторного абдоминального родоразрешения у пациенток с рубцом на матке за счёт повышения частоты самопроизвольных родов, а также со снижением гнойно-септических осложнений в послеродовом периоде, что имеет важное значение для практического здравоохранения.

Диссертация Пекаревой Евгении Олеговны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751 и от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой акушерства
и гинекологии №2 федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования «Омский
государственный медицинский университет»