

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Петрива Тараса Ігоровича «Вплив трансплантації стовбурових клітин нервового гребеня на регенерацію периферичного нерва при його травматичному ураженні в експерименті»**, поданої до Спеціалізованої вченої ради Д 26.557.01 при ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук **за спеціальністю 14.01.05 – нейрохірургія**

Актуальність обраної теми. Травма периферичної нервової є надзвичайно актуальною проблемою сьогодення як у мирний час, так і у випадках збройних конфліктів. В Україні кожного року травму периферичних нервів отримують 2,5–3 тис. потерпілих. Основними причинами ушкодження периферичних нервів є транспортний та побутовий травматизм, а також вогнепальні поранення. У 26,5% всіх відкритих травм кінцівок є поєднане ушкодження нервів, кісток, судин та сухожилків, що значно утруднює лікування пацієнтів та приводить до інвалідності та зниження якості їх життя. Ушкодження периферичних нервів відзначають у 77% спостережень — при травмі верхньої кінцівки, у 23% — нижньої.

Бойові пошкодження кінцівок домінують у структурах бойової патології з часів Першої світової війни, становлячи в сучасних війнах до 70–75 %. Із них понад 75 % ушкоджень отримуються внаслідок дії вибухових боєприпасів. Поранення часто ускладнені критичною кровотечею та шоком. Ушкодження можливі в ділянках, явно віддалених від безпосереднього місця рани. При цьому досвід сучасних війн показав, що кількість поранених з ушкодженням нервів може складати від 9 до 25 %. Має місце приблизно однакове співвідношення уражень верхньої та нижньої кінцівок. Більше половини постраждалих залишаються інвалідами й до 80 % — не придатними до подальшої служби.

Незважаючи на бурхливий розвиток мікрохірургічних технологій, операції з приводу ушкоджень периферичних нервів, які є в арсеналі нейрохірургів на сьогоднішній день (невроліз, аутонейропластика, невротизація), досягнути бажаних результатів відновлення периферичних нервів, особливо за умов дефектів великого розміру, не вдасться. Саме тому триває пошук методів відновлення периферичних нервів при дефектах великого розміру за допомогою тканинно-інженерного підходу.

Багато уваги сьогодні науковці приділяють стовбуровим клітинам і їхньому впливу на регенерацію нерва у складі різних біоінженерних конструкцій. Існування стовбурових клітин (похідних) нервового гребеня (СКНГ), які присутні у постнатальному періоді життя, встановлено відносно недавно.

Оптимальними для клінічного застосування є стовбурові клітини, які можна виділити у постнатальному періоді життя з мінімальною інвазивністю і застосувати аутологічно. СКНГ з волосяного фолікула володіють всіма вищепереліченими характеристиками.

Автор вибрав саме тип травми нерву коли є дефект великого розміру, а біодеградуючі колагенові матрикси вже зараз дозволені для клінічного використання: пластики дефектів пальцевих нервів великого розміру.

Надзвичайно цікавим є поєднання методу пластики дефекту периферичного нерва великого розміру колагеновим матриксом та стовбурових клітин різного походження.

Таким чином, експериментальне дослідження ефекту трансплантації СКНГ на моделі дефекту периферичного нерва великого розміру дозволить створити теоретичний базис для подальшого вивчення даного методу лікування пацієнтів з травмою периферичних нервів у клінічних умовах.

Вищезазначене свідчить про актуальність, наукову новизну, теоретичне та практичне значення дисертаційного дослідження Петріва Тараса Ігоровича.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, які містяться в дисертації.

Дисертаційне дослідження проводилося протягом 2015-2018рр. в ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України», окремі етапи роботи були виконані на базі ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України».

Основні фрагменти роботи виконані в рамках науково-дослідної роботи ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» «Дослідити ефективність інноваційних методів відновлення функції спинного мозку та периферичних нервів з використанням тканинної нейроінженерії та електрохірургічних технологій в експерименті», № держресстрації 0117U004270 (2017–2019 рр.).

Дослідження виконано на 55 білих безпородних щурах-самцях, утримуваних у стандартних умовах віварію ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" з дотриманням чинних норм біоетики. Тварини були розділені на 4 групи, 3 з яких, у свою чергу, розділялася на 2 підгрупи (з часовими проміжками спостереження 4 тижні та 8 тижнів). 4 група тварин (псевдооперовані) використовувалися для отримання контрольних показників функціонального індексу СН. 3 тварини використовувалися для підтвердження життєдіяльності СКНГ у тканинно-інженерних матриксах на 7 добу експерименту.

З метою вивчення впливу трансплантованих СКНГ на функціональну регенерацію периферичного нерва використовувалися функціональний тест і електрофізіологічні методики. Для того, щоб прослідкувати подальше диференціювання трансплантованих стовбурових клітин та показати їхню участь у мієлінізації новоутворених нервових волокон, були використані сучасні методи імуногістохімічного дослідження.

Результати статистичної обробки даних з використанням сучасного ліцензійного програмного забезпечення (STATISTICA 10.0) та адекватних завданням дослідження тестів обумовили високу достовірність одержаних даних, на підставі яких автор обґрунтував наукові положення, висновки та

практичні рекомендації щодо можливого у майбутньому застосування СКНГ для лікування постраждалих із травмою периферичних нервів.

Таким чином, дисертаційна робота Петріва Т.І. виконана на великому експериментальному матеріалі з використанням сучасних методів функціонального тестування та морфологічних досліджень. Використані методи досліджень є сучасними, об'єктивними та доцільними, а отримані наукові положення, висновки та рекомендації базуються на достатньому експериментальному матеріалі, науково обґрунтовані та достовірні.

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі розширено наукові уявлення щодо впливу СКНГ на регенерацію периферичного нерва за даними функціональних та електрофізіологічних методів дослідження.

Показано, що СКНГ можуть зберігати функціональну активність у тканинно-інженерному матриксі на основі експресії фактора p75 та білка зеленої флюоресценції, набувати фенотипу шванівських клітин на основі експресії білка S100 і β -3-тубуліну.

СКНГ, імплантовані у складі тканинно-інженерного матрикса забезпечують максимальне відновлення структурно-функціональних стромально-мезенхімальних співвідношень та прискорення мієлінізації відновлених нервових волокон, про що свідчить експресія основного білка мієліну у тканинно-інженерних матриксах.

Практичне значення отриманих результатів. Експериментально обґрунтовано тканинно-інженерний підхід до подолання дефектів периферичних нервів великого розміру з використанням СКНГ, що є підґрунтям для його подальшого можливого впровадження в клінічну практику.

Запропоновано пристрій для проведення тесту “ходьби по доріжці” (патент України на корисну модель №118157 від 25.07.2017 р.) та методику отримання відбитків стоп щура (патент України на корисну модель №118156 від 25.07.2017 р.), яка впроваджена у роботу лабораторії експериментальної нейрохірургії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», що підтверджено відповідним актом впровадження.

Структура та зміст дисертації.

Дисертація Петріва Т.І. оформлена згідно з вимогами ДАК України і складається зі вступу, огляду літератури, 5 розділів власних досліджень, заключення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, додатку. Робота викладена на 146 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 56 рисунками, містить 13 таблиць. Список використаних літературних джерел містить 155 посилань, з них 18 — кирилицею, 137 — латиною.

У **Вступі** (6 сторінок) традиційно обґрунтовується актуальність обраної теми, визначена мета та 5 завдань дослідження, зазначені об'єкт і предмет дослідження, вказаний зв'язок із науково-дослідною роботою, в рамках якої проведено дослідження, чітко сформульовані та детально описані наукова новизна і практичне значення одержаних результатів. Зауважень до вступу немає.

В **Огляді літератури** (21 сторінка) дисертант проводить детальний аналіз літературних джерел, присвячених обраній тематиці. Ця глава поділена на декілька частин, в яких детально висвітлюються сучасні уявлення про процеси регенерації периферичних нервів, хірургічна тактика при ушкодженнях периферичних нервів, принципи використання синтетичних матриксів для відновлення ушкоджених периферичних нервів, принципи тканинної інженерії для відновлення периферичних нервів, джерела і види стовбурових клітин для її потреб. Зауважень до розділу немає.

Розділ **Матеріали та методи дослідження** (13 сторінок) ілюстрована 5 рисунками та однією таблицею, де описано методики культивування СКНГ, методику виготовлення тканинно-інженерних матриксів та методику проведення хірургічних втручань для їх імплантації, методики проведення функціонального тесту та електрофізіологічного дослідження, методики проведення гістологічного та імуногістохімічного досліджень. Суттєвих зауважень до розділу нема, за винятком того, чи була необхідність так детально описувати виконання хірургічної процедури у всіх групах експериментальних тварин.

Розділ 3 Результати відновлення периферичного нерва під впливом стовбурових клітин нервового гребеня за даними функціонального тесту (12 сторінок) ілюстрований 7 графіками, які відображають динаміку функціонального індексу сідничного нерва у частовому аспекті, 4 малюнками і 4 таблицями. У Розділі 3 показано результати функціонального відновлення сідничного нерва під впливом СКНГ. Таблиці розділу містять багато цифрових даних, і їх можна було б оптимізувати.

Розділ 4 Результати відновлення периферичного нерва під впливом стовбурових клітин нервового гребеня за даними електронейроміографії (16 сторінок) присвячений результатам електронейроміографічного тестування у групах експериментальних тварин на 4 та 8 тижнях експерименту, добре ілюстрований. Розділ містить 10 графіків та 4 таблиці. Зауважень до розділу немає.

Розділ 5 Результати відновлення периферичного нерва під впливом стовбурових клітин нервового гребеня за даними імуногістохімічного методу дослідження (9 сторінок) наочно показує здатність стовбурових клітин (похідних) нервового гребеня зберігати функціональну активність у тканинно-інженерному матриці на основі експресії фактора p75 та білка зеленої флюоресценції і набувати фенотипу шванівських клітин на основі експресії білка S100 і β -3-тубуліну. Розділ гарно ілюстрований, містить 10 рисунків, зауважень до розділу немає.

Розділ 6 Результати відновлення периферичного нерва під впливом стовбурових клітин нервового гребеня за даними гістологічних методів дослідження (11 сторінок) складається із двох підрозділів де описуються результати гістологічних методів досліджень шляхом імпрегнації стріблом та фарбуванням люксолевим синім. Містить 14 рисунків. Добре структурований і послідовно відображає морфологічні зміни в нерві. Зауважень до розділу нема.

Розділ Заключення (5 сторінок) не містить рисунків. Присвячений узагальненню і аналізу дослідження. Автор зупиняється на характеристиці результатів проведених досліджень, їх науковій та практичній цінності, основних закономірностей регенераційного процесу в нерві під впливом СКНГ.

На підставі отриманих результатів автор робить 5 обґрунтованих висновків, які логічно випливають із проведеного дослідження, відповідають меті та завданням роботи.

У розділі додатки містяться результати отримання культури стовбурових СКНГ, методику трансфекції їх віральним вектором, що несе ген білка зеленої флюоресценції та репрезентативні гістограми визначення фенотипу СКНГ.

Зміст автореферату відображає основний зміст дисертації.

Дисертацію Петріва Тараса Ігоровича можна вважати самостійною завершеною науковою роботою.

Матеріали дисертації апробовані на наукових конференціях та з'їздах із міжнародною участю. За темою дисертації опубліковано 13 наукових друкованих праць, з яких 5 статей у фахових періодичних виданнях, рекомендованих МОН України та цитуються у міжнародних наукометричних базах, 6 тез доповідей на конгресах, з'їздах, конференціях, отримано 2 патенти України на корисну модель.

При роботі над дисертацією виникли зауваження, які більше стосуються оформлення результатів дисертації і не носять принципового характеру.

В процесі знайомства з результатами наукових досліджень представлених в дисертації, виникли наступні **запитання** до автора дисертаційної роботи:

Які можливі шляхи удосконалення Вашого методу?

Чи можливе використання даного методу в ургентному режимі?

Чи можете Ви оцінити приблизну вартість операції у перерахунку на одного пацієнта в порівнянні з аутонейропластикою?

Зазначені питання та зауваження стосуються наукової новизни та методологічних засад дисертаційного дослідження, не мають принципового характеру і жодним чином не применшують її загальну позитивну оцінку.

Дисертація Петріва Тараса Ігоровича «Вплив трансплантації стовбурових клітин нервового гребеня на регенерацію периферичного нерва при його травматичному ураженні в експерименті» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук є завершеною, самостійною науковою працею, в якій автором особисто на достатньому матеріалі з використанням сучасних методів

дослідження та аналізу даних отримано нові оригінальні та вагомі наукові дані, що в сукупності вирішують актуальне наукове завдання нейрохірургії - експериментальне обґрунтування відновного нейрохірургічного лікування травм периферичних нервів шляхом тканинно-інженерного підходу.

За обсягом виконаних досліджень, актуальністю обраної теми, науковою новизною та практичною значущістю, сучасним рівнем дослідження, глибиною аналізу матеріалу дисертаційна робота Петріва Тараса Ігоровича відповідає зазначеній спеціальності 14.01.05 — нейрохірургія, профілю Спеціалізовано вченої ради Д 26.557.01 і вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567, а її автор, Петрів Тарас Ігорович, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.05 – нейрохірургія.

**Завідувач кафедри нейрохірургії
Харківського національного медичного
університету МОЗ України
доктор мед. наук, професор**



В.О.Г'ятікоп