

## Отзыв

официального оппонента доктора медицинских наук Меркулова Максима Владимировича по диссертационной работе Богова Алексея Андреевича на тему: «Экспериментально-клиническое обоснование применения клеток стромально-васкулярной фракции аутожировой ткани для стимуляции нейрорегенерации в хирургии повреждений плечевого сплетения» представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.8. Травматология и ортопедия и 3.1.10. Нейрохирургия.

### **Актуальность исследования:**

Хирургическое лечение повреждений стволов плечевого сплетения является наиболее сложным в микрохирургической практике и требуют технически сложных, многоэтапных вмешательств. Функциональный исход операции и качество восстановления пациента после травмы во многом зависит от точности восстановления анатомических структур нервных стволов. Стратегия оперативного вмешательства на плечевом сплетении зависит от типа и вида травмы, локализации, степени тяжести, а также от срока давности травматического повреждения. При нарушении целостности стволов плечевого сплетения достичь наилучшего функционального результата удаётся при помощи нейрорафии конец в конец. Однако, выполнить прямой шов удаётся не всегда. Зачастую между поврежденными концами нерва формируется диастаз, не позволяющий сопоставить проксимальный и дистальный фрагменты нерва без натяжения. Выполнение шва нерва с натяжением является грубым нарушением микрохирургической техники, приводящим к серьезным неудовлетворительным результатам. Для восполнения дефекта нерва наиболее распространенной стратегией в клинической практике является аутотрансплантация, которая заключается в использовании донорского фрагмента от другого нерва пациента. В этом случае аутологичный нервный трансплантат функционирует как иммуногенно инертный каркас, способствующий регенерации аксонов. Эта стратегия имеет ряд ограничений, таких как необходимость дополнительного оперативного вмешательства для забора донорского фрагмента нерва, вероятность отторжения из-за низкой жизнеспособности пересаживаемой ткани. По этим причинам поиск и разработка методов, позволяющих осуществить аутонервную пластику с наиболее прогнозируемым результатом, является актуальной.

В работе представлено положительное влияние клеток стромально-васкулярной фракции полученных из жировой ткани человек (СВФ-ЖТ). Которые выступают в качестве стимулятора регенерации при травме плечевого сплетения. Существует ряд экспериментальных работ, где показан нейропротекторный и стимулирующий эффект клеток СВФ, полученных из жировой ткани (СВФ-ЖТ). По их данным при анализе гистологических препаратов выявляется неоангиогенез, образование продольно ориентированных пучков коллагеновых волокон и пучков леммоцитов. Одним из значимых ключей к успеху для улучшения регенерации поврежденного нерва является ускоренная реваскуляризация поврежденного нерва. СВФ-ЖТ позволяет активизировать выработку факторов роста фибробластов, эндотелиального фактора роста, плацентарного фактора роста и других ангиогенных белков.

### **Цель исследования.**

Оценить эффективность посттравматической регенерации седалищного нерва крысы



и реконструированных после тракционного повреждения стволов плечевого сплетения человека, при интраневральной трансплантации клеток стромально-васкулярной фракции выделенной жировой ткани человека, а также оценить эффективность посттравматической регенерации плечевого сплетения в условиях дозированной distraction.

**Четыре задачи исследования** в целом отражают актуальность и цель исследования.

**Научная новизна.** Впервые в экспериментальных условиях показан терапевтический эффект ксенотрансплантации клеток СВФ-ЖТ сравнимый по эффективности с генной терапией плазмидой pBud-VEGF-FGF2 при введении в область аутонервной вставки седалищного нерва крысы. Показано, что клетки СВФ-ЖТ введенные интраневрально в область травмы седалищного нерва крысы поддерживают выживание чувствительных нейронов спинального ганглия L5 и стимулируют регенерацию аксонов.

В клинических условиях была проведена интраоперационная аутоотрансплантация клеток СВФ-ЖТ для стимуляции регенерации при хирургическом лечении тракционных повреждений плечевого сплетения. Впервые было показано сокращение сроков посттравматического восстановления двигательной и чувствительной функции травмированной конечности пациентов при аутоотрансплантации в область травмы плечевого сплетения клеток СВФ-ЖТ при реконструкции повреждений методами невролиза, невротизации и нейрорафии.

В ходе работы было разработано устройство, позволяющее осуществлять нейрорафию стволов плечевого сплетения при диастазе, без натяжения с возможностью не инвазивной distraction нерва в послеоперационном периоде. Показания сокращения сроков посттравматического восстановления стволов плечевого сплетения в условиях дозированной distraction. Получен патент РФ на изобретение «Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения» № 2772539 от 23.05.22.

**Практическая значимость.** В работе получены данные, обосновывающие целесообразность поиска новых клеточных типов, предназначенных для трансплантации с целью стимулирования регенерации периферических нервов.

Показана эффективность и безопасность применения клеток СВФ-ЖТ при реконструкции тракционных повреждений плечевого сплетения методами невролиза, нейрорафии и невротизации.

Проведенное исследование позволяет рассматривать СВФ-ЖТ в качестве стимулятора регенерации при травматическом повреждении плечевого сплетения.

Описан метод замещения дефекта нерва с помощью разработанного устройства позволяющего осуществить нейрорафию при наличии диастаза между концами нерва с последующей дозированной distraction нерва.

**Положения, выносимые на защиту,** в целом отражают цель, задачи и научную новизну исследования.

**Степень достоверности полученных результатов** определена 67 клиническими наблюдениями, использованием информативных и современных методов исследования, а также статистической обработкой данных с применением критериев доказательной медицины.

**Личный вклад автора.** Диссертант самостоятельно провел анализ профильной отечественной и зарубежной научной литературы, изучил и проанализировал истории болезней пациентов ретроспективной части исследования. Лично выполнил



экспериментальные исследования на животных и участвовал в работе с клеточными культурами *in vitro*. Принимал непосредственное участие в лечении профильных пациентов, являясь их лечащим врачом, в частности проводил хирургические вмешательства у пациентов проспективной части исследования, провел сбор первичных данных, их статистическую обработку, интерпретацию полученных результатов исследований. Принимал активное участие в подготовке публикаций и заявки на изобретение по теме диссертации, а также выступал с научными докладами по результатам проведенных исследований. Предложил соответствующий алгоритм, сформулировал выводы и практические рекомендации, написал все главы диссертации и автореферат.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальностям: 3.1.8. Травматология и ортопедия и 3.1.10. Нейрохирургия, клиническая и экспериментальная разработка методов лечения повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы и внедрение их в клиническую практику.

**Апробация и реализация материалов диссертационного исследования.** Материалы диссертационного исследования доложены на Поволжской с Российским участием мультидисциплинарной научно-практической конференции «Современные методы диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата» (Казань, 2020); Ежегодной научно-практической конференции, посвященной актуальным вопросам травматологии и ортопедии детского возраста «Турнеровские чтения» (СПб, 2020); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата» (Казань, 2019); VIII национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология» (М., 2019); IV Всероссийском конгрессе с международным участием «Медицинская помощь при травмах и неотложных состояниях в мирное и военное время. Новое в организации и технологиях» (СПб, 2019); Евразийском ортопедическом форуме (М., 2017); VI Евразийском конгрессе Травматологов-ортопедов (Казань, 2017); VI Всероссийском съезде общества кистевых хирургов, (Нижний Новгород, 2016); IV Национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология» (М., 2015).

**Публикации по теме диссертации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, из них 3 статьи в журналах, рецензируемых ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, в том числе 3 статьи, входящих в международную базу цитирования. Получены патенты РФ: № 2499565 и № 2772539.

**Объем и структура диссертации.** Материалы диссертационного исследования представлены на 164 страницах. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы по материалам и методам исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 11 таблиц и 30 рисунков. Список литературы включает 177 источников: из них 66 – отечественных и 111 – иностранных авторов.

**В первой главе** диссертационного исследования представлен обзор научных публикаций, посвященные современным представлениям о проблеме хирургического лечения плечевого сплетения, описаны причины и механизмы травматического



повреждения, виды травм, способы диагностики и методы хирургического лечения. Особое внимание в первой главе уделено методам стимуляции регенерации нервных волокон. Подробно представлены данные о применении аутологичной стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) при травматических повреждениях периферических нервов. Показано, что СВФ-ЖТ способны стимулировать регенерацию нервной ткани путём секреции биологически активных молекул и нейротрофических факторов.

**Во второй главе** представлены материалы и методы работы, включавшие экспериментальную и клиническую части. Экспериментальные исследования проводили на базе ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет». На модели травматического повреждения седалищного нерва крысы проводили реконструкцию методом аутонервной вставки протяженностью 5 мм. С целью стимуляции регенерации интраоперационно интраневрально осуществляли ксенотрансплантацию СВФ-ЖТ и генно-терапевтической плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2. В ходе эксперимента оценивали нейропротекторные свойства клеток в отношении чувствительных нейронов спинального ганглия L5 и стимулирующее влияние на рост аксонов в динамике посттравматического процесса, путем оценки изменения максимальной амплитуды М-ответа икроножной мышцы крыс на протяжении 56 дней после аутонервной вставки.

Первая клиническая часть исследования включала анализ функциональных исходов хирургического лечения 67-ми пациентов с повреждениями плечевого сплетения, из которых 32 были включены в основную группу и 35 пациентов составили группу сравнения. В основную группу исследования вошли пациенты, которым были выполнены восстановительные операции на повреждённых нервных структурах плечевого сплетения с использованием СВФ-ЖТ. Все пациенты были прооперированы в отделении Травматологии №2 (микрохирургии) ГАУЗ "РКБ" МЗ РТ. Пациенты внутри групп были разделены на подгруппы по способу реконструкции стволов плечевого сплетения – невролиз или невротизация.

Вторая клиническая часть диссертационного исследования посвящена разработке и апробированию неинвазивного устройства для distraction стволов плечевого сплетения, позволяющего осуществить нейрорафию при наличии диастаза между концами нерва. Патент РФ на изобретение «Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения» № 2772539 от 23.05.22.

Оценку функциональных исходов оперативного лечения пациентов проводили во время регулярных контрольных осмотров в сроки до 0-6, 6-12 и 12-24 и 24-36 месяцев после операции. С целью оценки качества посттравматического восстановления пациентов основной и контрольной групп исследования проводили клинико-инструментальные методы исследования, которые включали оценку восстановления двигательной и чувствительной функции, а также проводили электронографическое исследование с целью оценки количества двигательных единиц.

**В третьей главе** диссертации представлены результаты и обсуждение результатов экспериментального исследования. Сравнительное исследование амплитуды М-ответа через 3, 14, 28, 42, 56 суток после аутонервной вставки седалищного нерва крысы позволила зафиксировать статистически значимо большую амплитуду М-ответа у животных со стимуляцией регенерации путем введения СВФ-ЖТ и плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 на всем периоде наблюдения по сравнению с животными контрольной



группы. Статистически значимых отличий между первой и второй группами в результате сравнительного анализа выявлено не было. Микроскопический анализ срезов спинальных ганглиев L5 на стороне операции позволил оценить количество выживающих нейронов. Было показано, что в группах с использованием СВФ-ЖТ и плазмиды рBUD-VEGF165-FGF2, количество выживающих нейронов было больше на 28,1% ( $p = 0,0197$ ) и 26,8% ( $p = 0,0447$ ), соответственно, по сравнению с животными посттравматическое восстановление которых происходило без стимуляции его регенерации. При этом, между экспериментальными группами со стимуляцией регенерации достоверных отличий зафиксировано не было. Учитывая легкодоступность СВФ-ЖТ и выраженные терапевтические качества сопоставимые по результативности с прямой генной терапией, был сделан вывод о целесообразности клинической апробации предлагаемой методики с целью улучшения результатов лечения травматических повреждений плечевого сплетения.

**В четвертой главе** представлены клинические результаты и обсуждение результатов хирургического лечения повреждений плечевого сплетения с применением клеток стромальной васкулярной фракции. Показано, что у пациентов с клеточной стимуляцией наблюдаются более ранние сроки появления первых признаков реинервации с последующим ускорением процессов регенерации, что способствует улучшению результатов лечения и свидетельствует об эффективности использования клеточной терапии в хирургии повреждения плечевого сплетения. Также в этой главе представлены результаты апробации разработанного в рамках диссертационного исследования аппарата для дозированной distraction нервов, позволяющего осуществить нейрорафию поврежденных структур плечевого сплетения при наличии диастаза. При всестороннем исследовании эффектов дозированной тракции стволов плечевого сплетения было проведено электромиографическое исследование на сроках 0-6 месяцев, 6-12 месяцев и 12-24 месяца после нейрорафии и установки аппарата. Было зафиксировано достоверное увеличение количества двигательных единиц, что дает нам основание заключить, что данный хирургический подход можно рассматривать как возможную альтернативу аутонервной пластике нерва при протяженных диастазах между концами нерва, а также метода не инвазивной стабилизации конечности на этапе осуществления дозированной тракции.

**В пятой главе** диссертации представлены обобщение и сопоставление экспериментальной и клинической частей диссертационной работы. Прежде всего представлено обоснование клинической апробации СВФ-ЖТ на основании полученных экспериментальных данных. Кроме того, представлены подтверждения эффективности применения клеточной терапии при хирургическом лечении травматических повреждений плечевого сплетения.

**В заключении** подведены общие итоги диссертационного исследования, представлены сведения по решению поставленных задач диссертационной работы и кратко обсуждены полученные результаты.

**Автореферат** изложен на 24 страницах и в полной мере отражает основные положения диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по проведенной работе нет. **Возникло несколько вопросов:** почему нейротропное и нейропротективное действие жировой ткани оценивали

по ЭНМГ в эксперименте? С какой целью исследовали ганглий L5, с учётом того, что вводили СВФ-ЖТ в зону аутонервной вставки?

### Заключение

По актуальности избранной темы, методическому уровню, объёму исследований, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Богова Алексея Андреевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.8. Травматология и ортопедия и 3.1.10. Нейрохирургия (медицинские науки), а ее автор Богов Алексей Андреевич заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Врач-травматолог-ортопед

3-го травматолого-ортопедического отделения (микрохирургии и травмы кисти)

ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России

Доктор медицинских наук

 М.В. Меркулов

Докторская диссертация защищена по специальности 3.1.8. Травматология и ортопедия (медицинские науки)

Подпись д.м.н. М.В. Меркулова заверяю

Заместитель директора по науке

ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России

к.м.н.

« 31 » \_\_\_\_\_ 01 \_\_\_\_\_ 2023 г.

 М.С. Ветрилэ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
127299, г. Москва, ул. Приорова, д.10.  
Тел. +7(495) 450-39-29;  
e-mail: cito@cito-priorov.ru  
<https://www.cito-priorov.ru>