

## **ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА**

доктора медичних наук, професора, завідувача відділення реконструктивної ортопедії та травматології Університетської лікарні Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова Безсмертного Юрія Олексійовича на дисертаційну роботу Лисака Андрія Сергійовича на тему: «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 14.01.21 – ортопедія-травматологія (222 – Медицина)

ДУ «Національний інститут травматології та ортопедії НАМН України»

**Актуальність теми дослідження.** Ушкодження периферичних нервів продовжують привертати увагу фахівців у зв'язку зі зростанням цієї патології, тяжкими порушеннями функції кінцівки і складністю відновного лікування. За даними різних авторів частота травм периферичних нервів коливається від 1,5 до 4%, а в період бойових дій сягає до 20% всіх пошкоджень кінцівок. Перспективним напрямком лікування пошкоджень периферичних нервів є використання принципів мікрохірургії з відновлення всіх пошкоджених структур. Саме точність відновлення анатомічних утворень часто визначає функціональний результат операції та долю хворого. Результат лікування також залежить від типу ураженого нерву, рівня та ступеню його пошкодження, наявності дефектів нервів чи м'язів, стану цільових м'язів або рецепторів. Відновлення функції кінцівки після хірургічних втручань на периферичних нервах, як правило, залишається недостатньо ефективним, і, згідно з даними різних досліджень, ефективність відновлення функції цільових м'язів варіює від 40% до 69%.

Лікування травм нервів є надзвичайно складним, особливо коли вони супроводжуються політравмою, оскільки в таких випадках при розробці стратегії лікування необхідно враховувати всі супутні пошкодження кісток, м'язів, сухожиль, судин та шкіри. В більшості випадків відновлення цілісності периферичних нервів у оптимальні строки (зважаючи на нейробіологічні фактори та терміни денервації м'язів) є малоімовірним. Затримка у відновленні призводить до прогресивної атрофії і гіпотрофії м'язів.

При проксимальних або застарілих ушкодженнях периферичних нервів результат лікування зазвичай гірший, оскільки після відновлення нерву аксони повинні прорости значні відстані щоб знову досягти дистальних м'язів. Це підкреслює важливість збереження функції цільових м'язів при

лікуванні таких ушкоджень. Отже, пошук нових методів збереження м'язів від моменту їх денервації до реіннервації є важливим напрямом сучасної медицини.

Представлена дисертаційна робота Лисака Андрія Сергійовича «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» є актуальною та своєчасною, оскільки спрямована на вирішення важливого завдання сучасної травматології та ортопедії – вивченню впливу аспірату кісткового мозку на функціональні, структурні та біохімічні зміни в скелетних м'язах тазової кінцівки дослідних тварин у денерваційно-реіннерваційний період на тлі моделювання травматичного ураження та відновлення сідничного нерву.

Вищевикладене, обумовлює необхідність та доцільність даного дослідження.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами**

Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових напрямків НДР ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» «Дослідження механізмів впливу клітинних технологій на ішемічні та денерваційно-реіннерваційні процеси у м'язах (експериментально-клінічне дослідження)» № держреєстрації 0122U000306.

### **Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації**

Дисертантом опановано сучасні методи дослідження, а саме: експериментальний (моделювання денервації кінцівки), променевий (МРТ, КТ), нейрофізіологічний (голкова електронейроміографія), морфометричний (кількісна оцінка аксонів, визначення ступеню гіпотрофії м'язів, кількості м'язових волокон), електронна мікроскопія, біохімічний (визначення активності ферментативних систем (енергообмін) м'язу на етапах денерваційно-реіннерваційного процесу), методи математичної статистики, використання яких у сукупності забезпечило достовірні результати.

Для реалізації поставлених завдань роботи проводили експериментальне дослідження на кролях, яким виконано хірургічне пересічення та відновлення сідничного нерву і введення аспірату кісткового мозку в цільові м'язи тазової кінцівки. Автором проведено ретельне обстеження експериментальних тварин з метою виявлення клінічних проявів денервації прооперованої кінцівки. Вивчено дані електронейроміографічних досліджень в різні терміни денерваційно-реіннерваційного процесу у дослідних тварин різних груп. На основі аналізу МРТ та КТ досліджень

оперованих кінцівок оцінені зміни, що виникають у цільових м'язах на етапах денерваційно-реіннерваційного процесу. Автором також було проаналізовано результати гістологічних та морфометричних досліджень. Всім тваринам була проведена електронна мікроскопія з метою виявлення ультраструктурних змін та впливу на них аспірату кісткового мозку. На основі одержаних морфологічних результатів сформульовано гіпотезу про виникнення у денерованих м'язах балансу між процесами регенерації та гіпотрофії, порушення цього балансу за рахунок виснаження регенеративного потенціалу м'яза призводить до атрофії м'язових волокон. Відмічено, що дія клітин аспірату кісткового мозку може пролонгувати стан рівноваги між регенерацією та гіпотрофією денерованого м'язу. Проведено поглиблений аналіз результатів біохімічних змін.

Ці факти дозволяють розцінювати отримані дисертантом результати як науково обґрунтовані. Висновки, що наведені в дисертаційному дослідженні, зроблені на основі фактичного матеріалу проведених досліджень і статистичної значущості одержаних результатів, цілком відповідають завданням дослідження та свідчать про досягнення поставленої мети.

Дисертаційне дослідження виконано з дотриманням вимог, морально-етичних норм та основних положень з питань біоетики згідно сучасних міжнародних та вітчизняних документів з біомедичних досліджень.

### **Наукова новизна досліджень та одержаних результатів**

Наукова новизна дисертаційного дослідження не викликає сумнівів. Автором вперше отримано наукові дані щодо впливу аспірату кісткового мозку на регенеративний потенціал скелетних м'язів в період денервації та реіннервації. Встановлено, що введення аспірату кісткового мозку сприяє зменшенню клінічних проявів денервації кінцівки, зокрема спостерігається менша кількість ускладнень та їх легший перебіг, опосередковано стимулює регенерацію хірургічно відновленого сідничного нерву, збільшуючи щільність регенерації нервових волокон та їх мієлінізацію. Введення аспірату кісткового мозку у цільові м'язи під час оперативного втручання та на ранніх етапах реіннервації – сприяло зменшенню клінічних проявів денервації кінцівки таких як: набряк м'язів, наявність трофічних виразок, ознак аутофагії частин кінцівки. За даними голкової електронейрографії реіннервація кінцівки проявлялась збільшенням кількості потенціалів рухових одиниць.

З'ясовано, що введення аспірату кісткового мозку нормалізує біохімічні показники продуктів пероксидації ліпідів, що збільшуються при

пошкодженні скелетного м'яза. У групах де виконували введення аспірату кісткового мозку було зареєстровано достовірно ( $p < 0,05$ ) менші рівні продуктів пероксидації ліпідів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою. Також спостерігалось підвищення активності каталази та пролонгація тривалості періоду рівноваги між гіпотрофією і регенерацією, що проявлялося у зменшенні ознак гіпотрофії та деструкції міоцитів, а також у реєстрації більшої кількості гіпертрофованих м'язових волокон.

Поглиблено знання щодо якісних та кількісних характеристик структурних змін м'язової тканини у денерваційно-реіннерваційному періоді під впливом клітин аспірату кісткового мозку променевими (КТ та МРТ) та морфологічними методами досліджень. Продемонстровано, що відстрочене введення аспірату червоного кісткового мозку достовірно ( $p < 0,05$ ) зменшує набряк денервованих цільових м'язів кінцівки за даними КТ та МРТ.

Вперше в експериментальних умовах проведено порівняльний аналіз впливу часу введення аспірату кісткового мозку на хід репаративно-відновних процесів у м'язовій тканині після денервації та на етапах реіннерваційного процесу. Встановлено, що введення аспірату кісткового мозку на гострій стадії (під час первинного хірургічного втручання) сприяє зменшенню гіпотрофії та набряку цільових м'язів, тоді як введення у віддалений період покращує реіннервацію м'язів (спостерігається більша кількість потенціалів рухових одиниць).

Виявлено низку ефектів впливу аспірату кісткового мозку на перебіг атрофії м'язової тканини в денерваційно-реіннерваційний період, зокрема збереження довжини саркомерів і кількості скоротливих міофібрил, зниження рівня продуктів пероксидації ліпідів і підвищення активності каталази. Дані електронної мікроскопії засвідчили достовірно ( $p < 0,05$ ) більшу середню довжину саркомерів у групі де не виконували введення аспірату кісткового мозку, що свідчить про їхню деструкцію та порушення організації актин-міозинових комплексів, тоді як у інших групах таких змін не спостерігалось.

Вперше на основі експериментальних та біохімічних досліджень вивчено процеси пероксидації та активність ферментів антиоксидантної системи у скелетних м'язах у денерваційно-реіннерваційний період за умови введення аспірату кісткового мозку. Встановлено, що атрофія скелетних м'язів супроводжувалася значним підвищенням рівня продуктів пероксидації ліпідів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою, а також зростанням активності каталази на 12-му тижні. Застосування аспірату кісткового мозку сприяло частковій нормалізації біохімічних показників, причому більш виражений ефект спостерігався при відтермінованому введенні.

### **Теоретичне значення отриманих результатів**

Автором вперше отримано нові наукові дані щодо впливу аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період. Результати дисертаційної роботи дозволили поглибити та деталізувати дані на експериментальній моделі щодо впливу аспірату кісткового мозку на перебіг денерваційно-реіннерваційних процесів в м'язах та визначити ефективність його введення після ушкодження та відновлення периферичного нерву, що покращило результати лікування ушкоджень периферичних нервів.

### **Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності**

Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні, підґрунтям якого є якісний науково-патентний пошук, чітке визначення мети дослідження та постановка завдань для її досягнення, комплексним використанням теоретичних методів дослідження, експериментального моделювання, морфологічного та біохімічного досліджень, ретельно обраних методів статистичного аналізу результатів досліджень. Застосовано повний спектр інструментальних досліджень: голкова електронейроміографія цільових м'язів, комп'ютерна томографія, магнітно-резонансна томографія. Статистичне оброблення даних проведено коректно, підтверджено значущість отриманих результатів, і цього цілком достатньо для отримання достовірних даних. Все це дозволило автором отримати нові знання стосовно впливу аспірату кісткового мозку на перебіг денерваційно-реіннерваційних процесів в м'язах, та визначити ефективність його введення після ушкодження та відновлення периферичного нерву.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Дисертаційна робота виконана під науковим керівництвом доктора медичних наук, професора, член-кореспондента НАМН України Страфуна Сергія Семеновича. На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику відділу мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки ДУ «Національний інститут травматології та ортопедії НАМН України» технологію введення аспірату кісткового мозку в цільові скелетні м'язи з метою покращення функціональних результатів відновних операцій при ушкодженнях периферичних нервів.

### **Повнота викладених матеріалів дисертації в опублікованих працях**

Матеріали дисертаційної роботи повністю відображені у 5 наукових працях, з них індексуються у реферативній базі Scopus – 1 стаття, у виданнях що видаються в країнах Європейського Союзу – 1, у виданнях, включених до переліку наукових фахових видань ДАК МОН України – 3, в матеріалах з'їздів та конференцій опубліковано 9 тез. Всі публікації є сучасними науковими працями, які підготовлені на високому науковому рівні відповідно до сучасних вимог.

### **Структура та зміст дисертації**

Зміст і структура дисертаційної роботи Лисака А.С. відповідають вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт. Робота написана українською мовою за традиційною схемою, складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, шести розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел, додатків. Всі розділи дисертації викладені послідовно, ґрунтовно, у науковому стилі. Загальний обсяг роботи складає 157 сторінок машинописного тексту. Робота ілюстрована 37 рисунками і 10 таблицями. Список літератури містить 180 джерел інформації (3 кирилицею та 177 латиницею). Анотація подана державною та англійською мовами з коротким викладом основного змісту.

У **«Вступі»** окреслена актуальність дисертаційної роботи, сформульовано мету і завдання роботи, відображено її наукове та практичне значення, зазначено особистий внесок здобувача, форми оприлюднення та впровадження результатів дослідження, кількість публікацій за темою роботи.

У розділі **«Огляд літератури»** автором представлені дані епідеміології ушкоджень периферичних нервів кінцівок та сучасні підходи до збереження цільових м'язів кінцівок при їх денервації. На основі аналізу літератури дисертант окреслює невирішені та дискусійні питання щодо пролонгації регенеративного потенціалу скелетного м'яза від моменту його денервації до настання реіннервації. При написанні розділу опрацьовано значну кількість сучасних публікацій, що свідчить про професійну компетенцію здобувача.

У розділі 2 **«Матеріали та методи»** представлено дані щодо дизайну дослідження, описано експериментальну модель та терміни введення ампірату кісткового мозку, проведено опис дослідних груп, клініко-інструментальних методів обстеження, методик гістологічного, морфометричного, біохімічного досліджень, електронної мікроскопії та методів статистичної обробки даних. Описані автором методи обробки даних сучасні і відповідають поставленим задачам.

Результати власних досліджень викладено у 6 розділах дисертації.

У розділі 3 **«Клінічні прояви денервації кінцівки»** автор наводить результати проведеного клінічного дослідження з оцінки проявів денервації кінцівки у експериментальних тварин, та ефективності введення аспірату кісткового мозку. Проаналізовано можливість застосування мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку, які сприяють регенерації м'язових волокон та неоангіогенезу. Показано, що введення аспірату червоного кісткового мозку у цільові м'язи під час первинного оперативного втручання (нейротомії та нейрорафії сідничного нерва) та на ранніх етапах реіннервації (через 7 тижнів під первинного хірургічного втручання) – сприяло зменшенню клінічних ускладнень пов'язаних з денервацією кінцівки, таких як: набряк м'язів, наявність трофічних виразок, ознак аутофагії сегментів кінцівки, переломів та незрощень кісток гомілки. Введення аспірату червоного кісткового мозку в цільові м'язи на 7 тиждень після первинного хірургічного втручання, достовірно ( $p < 0,05$ ) сприяло зменшенню набряку скелетних м'язів кінцівки та вираженості проявів гіпотрофії.

Розділ написаний грамотно, проілюстрований достатньою кількістю таблиць та рисунків.

У 4 розділі **«Електронеуроміографічне дослідження»** дисертантом проведено аналіз голкової електронеуроміографії в діагностиці ранніх ознак денервації та реіннервації скелетного м'яза. Відмічено рівномірне зростання тривалості, амплітуди та поліфазності потенціалів рухових одиниць в ранній період між восьмим та дванадцятим тижнями – що є притаманним для активного реіннерваційного процесу. Введення аспірату червоного кісткового мозку у цільові м'язи під час хірургічного втручання з пошкодження та відновлення сідничного нерву, та на ранніх етапах реіннервації (7 тижнів після оперативного втручання) – сприяє покращенню реіннерваційних процесів у скелетних м'язах кінцівки, що проявляється реєстрацією більшої кількості потенціалів рухових одиниць, та має тенденцію до достовірності ( $p = 0,07$ ). При цьому суттєво не впливає на тривалість, амплітуду та форму (поліфазність) зареєстрованих потенціалів рухових одиниць.

У розділі 5 **«КТ та МРТ дослідження цільових м'язів»** автором проведена оцінка змін в скелетних м'язах після ушкодження та відновлення сідничного нерву за допомогою КТ та МРТ. Встановлено, що КТ дозволяє кількісно оцінити щільність м'язів і виявити набряк у ранній період денервації, тоді як МРТ більш точно візуалізує зміни у структурі м'язів. Введення аспірату кісткового мозку впливало на рентгенологічні параметри м'язів, демонструючи потенційний ефект на процеси регенерації.

**Розділ 6** присвячений гістологічній та морфометричній оцінці ефективності регенерації сідничного нерву після повного перетину та нейрорафії. Автором продемонстровано, що введення аспірату кісткового мозку покращує процес регенерації аксонів через зону шва, збільшуючи щільність регенерованих волокон, особливо у ранні терміни. Раннє введення аспірату стимулювало проростання через неврому більшої щільності нервових волокон, а через 12 тижнів різниці активності регенерації на рівні невроми та у дистальному сегменті нерву між групами 2 і 3 вже не спостерігалася. Встановлено відсутність достовірної різниці щільності регенерації нервових волокон у кінцевому терміні спостереження при ранньому та пізньому введенні клітинного аспірату кісткового мозку. Як і попередній, розділ написано змістовно, добре ілюстрований рисунками.

**Розділ 7 «Структурні зміни м'язів гомілки після повного перетину та нейрорафії»** присвячений вивченню впливу аспірату кісткового мозку на стан скелетних м'язів гомілки після ушкодження сідничного нерву та його відновлення. Виявлено, що перетин нерву призводить до значної атрофії м'язових волокон, збільшення сполучної тканини та руйнування ультраструктури міофібрил. Введення аспірату кісткового мозку частково зменшувало атрофічні зміни, стимулювало регенерацію та сприяло збереженню саркомерів.

**У розділі 8** автор висвітлив результати досліджень біохімічних змін у скелетних м'язах після денервації та пластики нерва. Показано, що антиоксидантна система скелетних м'язів зазнає значних змін після денервації, а введення аспірату кісткового мозку впливає на ці процеси. Підвищення рівня продуктів пероксидації ліпідів свідчить про окисний стрес, який зменшується після введення клітин аспірату, особливо при відтермінованому введенні. Активність каталази змінювалася залежно від групи, що вказує на адаптивну відповідь на пошкодження. Дисертантом зроблено підсумок, що рівень ТБК, як продукту пероксидації ліпідів, проградієнтно зростає у всі терміни. Після введення клітин аспірату кісткового мозку їх рівень зменшився, що можна оцінити як прояв їх утилізації, так і пригнічення утворення. У відповідь на рівень ТБК-реагуючих продуктів зросла активність каталази, оскільки у відповідь на окисний стрес активується антиоксидантна система. Результати біохімічних досліджень оброблені методами статистичного аналізу.

Висновки стисло представляють основні результати проведених наукових досліджень та повністю відповідають запланованій меті та завданням дисертаційної роботи. Список використаних у дисертації

літературних джерел представлений публікаціями вітчизняних та зарубіжних авторів, які оформлено згідно існуючим стандартам.

У підсумку хочу відмітити, що розділи дисертації відповідають змісту роботи та написані детально і послідовно. Представлений у розділах матеріал проілюстрований достатньою кількістю таблиць та рисунків. Наприкінці кожного розділу є резюме з підсумками проведених досліджень.

### **Відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Основні теоретичні, наукові та практичні положення дисертаційної роботи Лисака А.С. відображені в анотації у повному обсязі. Дисертація відповідає спеціальності 222 «Медицина», а робота є завершеною науковою працею, написана українською мовою з дотриманням усіх норм наукового стилю. В дисертації наявні окремі стилістичні та граматичні помилки, які принципово не впливають на загальну позитивну оцінку роботи і не зменшують її наукової та практичної цінності. Дані недоліки обговорені з дисертантом і були усунені.

В ході рецензування виникли наступні запитання:

1. На підставі проведеного експериментального дослідження чи аналізували Ви характер структурних та функціональних змін м'язів в залежності від об'єму та зони введення аспірату кісткового мозку?
2. Яка кратність та терміни введення аспірату кісткового мозку в цільовий м'яз є оптимальними при лікуванні хворих після хірургічного відновлення периферичного нерва?
3. Які з досліджених біохімічних маркерів або їх поєднань могли б слугувати маркерами сприятливого перебігу відновлення скелетного м'язу у денерваційно-іннерваційному періоді після хірургічного відновлення периферичного нерва?

### **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Лисака Андрія Сергійовича на тему: «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період», що представлена на здобуття наукового ступеня доктор філософії за спеціальністю 22 «Охорона здоров'я» 222 «Медицина» є завершеною самостійною науковою роботою, у якій на основі проведених досліджень на високому науковому та методологічному рівні з високим ступенем вірогідності розроблено та обґрунтовано вирішення важливого питання - вивчення впливу аспірату кісткового мозку на функціональні, структурні та біохімічні зміни в скелетних м'язах тазової кінцівки дослідних тварин у денерваційно-реіннерваційний період на тлі моделювання травматичного ураження та відновлення сідничного нерву.

За своєю актуальністю, методологією дослідження, достовірністю та обґрунтованістю одержаних результатів, висновків, теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота Лисака А.С. повною мірою відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 зі змінами, внесеними згідно Постанови КМУ № 341 від 21 березня 2022 р, № 502 від 19 травня 2023 р. та № 507 від 3 травня 2024 р. і оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

### **Офіційний опонент**

завідувач відділення реконструктивної  
ортопедії та травматології  
Університетської лікарні  
Вінницького національного медичного  
університету імені М.І. Пирогова,  
доктор медичних наук, професор

Юрій БЕЗСМЕРТНИЙ