

Висновок

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Лисак Андрія Сергійовича на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)».

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, завідувач відділу мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки ДУ «Інститут травматології та ортопедії Національної академії медичних наук України» Страфун Сергій Семенович.

Рецензенти:

1. Курінний Ігор Миколайович – провідний науковий співробітник відділення мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», доктор медичних наук.
2. Голюк Євген Леонтійович – керівник науково-практичного центру тканинної та клітинної терапії ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», кандидат медичних наук.

Ким і коли затверджена тема дисертації.

Тема дисертаційної роботи «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «ІТО НАМН України» (протокол засідання Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» № 6 від 23.04.2021 року).

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційного дослідження.

Комісія з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень

при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» зробила висновок, що дослідження Лисака Андрія Сергійовича «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «ІТО НАМН України» не містять підвищеного ризику для суб'єктів дослідження та виконано з урахуванням існуючих біоетичних норм та наукових стандартів щодо проведення експериментальних досліджень із залученням експериментальних тварин. Згідно з експертним висновком Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», заперечень щодо подання матеріалів дисертації до захисту немає (протокол засідання №2 від 05.04.2021 року), (протокол засідання №5 від 11.09.2024 року).

1. Актуальність теми та її зв'язок з планами наукових робіт установи.

Травма периферичного нерву – часто супроводжується втратою рухової функції, чутливості, або обох цих функцій. Травми периферичних нервів кінцівок займають важливе місце у структурі загального травматизму – від 1,3% до 3,5% серед усіх травм населення. В Сполучених Штатах Америки щорічно виконується близько 50000 оперативних втручань на периферичних нервах, загальна вартість яких більше 7 мільярдів доларів США. Серед цих уражень переважають травми нервів верхньої кінцівки, що складають 77% серед всіх травматичних уражень периферичних нервів. Серед медико-соціальних чинників що суттєво впливають на інвалідизацію пацієнтів з травмами периферичних нервів виділено кілька основних факторів: виражений і постійний больовий синдром, підвищена чутливість до холоду, час що минув після травми, характер роботи пацієнта, старший вік, і особливо травма плечового сплетення.

«Золотим стандартом» відновлення периферичних нервів після їх пошкодження - є шов або аутонейропластика. Проте значна кількість авторів вказує, що задовільні результати реіннервації (можливість виконання м'язом роботи проти опору, та відновлення дискримінаційної чутливості) при

мікрохірургічному відновленні нерву вдалось досягнути лише у 20-40% пацієнтів. Проведений у 2005 році метааналіз літератури, показав що задовільних результатів функціонального відновлення – вдалось досягти лише у 51.6% пацієнтів.

Сучасна концепція біологічних засад регенерації периферичного нерву та відновлення нервово-м'язових синапсів відводить шваннівським, термінальним шваннівським клітинам ушкоджених периферичних нервів та сателітним клітинам міоцитів – ключову роль. В той же час провідними причинами незадовільних результатів відновлення периферійних нервів – виділяють проблему денерваційних змін шваннівських клітин дистальних відділів ураженого нервового волокна, загибель чи міграцію термінальних шваннівських клітин ушкоджених нейро-м'язових синапсів, та виснаження пулу сателітних клітин міоцитів.

Саме тому важливою проблемою у регенерації периферичних нервів, на нашу думку, є відновлення альтерованих нервово-м'язових синапсів, та покращення регенеративного потенціалу денервованого скелетного м'язу. На цей час класичним методом стимуляції відновлення скелетного м'язу вважається використання електронейростимуляції. Проте в останні часи лікувальна процедура електростимуляції нервів та м'язів зіткнулась з різкою полярністю думок, адже з'явилися дані, що електростимуляція м'язів на етапі їх реіннервації – механічно руйнує мостики термінальних шваннівських клітин до сусідніх кластерів нікотин-ацетилхолінових рецепторів, тим самим перешкоджаючи процесу термінального колатерального спраутингу, а отже і погіршуючи результати реіннервації. Ці дослідження викликали необхідність пошуку альтернативних способів покращення результатів реіннервації.

Певні сподівання на можливість стимуляції відновлення нервово-м'язових синапсів та покращення регенеративного потенціалу денервованого скелетного м'язу покладають клітинні технології: використання факторів росту чи біоактивних речовин та стовбурових клітин, адже можливість їх перетворення на шваннівські клітини та сателітні клітини міоцитів – доведена

рядом експериментальних робіт.

Враховуючи сказане вище, питання дослідження впливу стромальних стовбурових клітин на ефективність реіннервації скелетних м'язів, та можливості регулювати цей ендогенний процес потребує подальшого вивчення, систематизації та визначення алгоритму лікування пацієнтів.

Дисертаційна робота розглянута на Проблемній комісії, затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» як самостійне наукове дослідження.

2. Формування наукового завдання, нове розв'язання якого отримано в дисертації.

У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання ортопедії і травматології, а саме покращення результатів хірургічного лікування хворих з травмами периферичних нервів кінцівок шляхом введення аспірату кісткового мозку в цільові скелетні м'язи кінцівок.

3. Наукові положення, розроблені особисто дисертантом та їх повизна.

Наукова робота є особистою працею автора. Автор самостійно визначив напрямок дослідження, провів пошук і аналіз літератури, сформував мету роботи, провів експериментальне дослідження, здійснив статистичну обробку даних, їх аналіз та узагальнення сформулював висновки і практичні рекомендації роботи. Здобувач самостійно здійснив написання розділів дисертації, підготував до публікацій і доповідей на конференціях матеріали наукових робіт.

У наукових роботах, які виконані в співавторстві, здобувач реалізував свої наукові ідеї. Співавтори наукових робіт надавали технічну допомогу, допомогу в діагностичному процесі.

4. Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій базуються на достатній кількості експериментальних досліджень (експериментальне дослідження було проведене на 26 кролях породи Шиншила вагою 2,5-3,9 кг з моделюванням ушкодження сідничного нерву та його відновлення, і введення аспірату червоного кісткового мозку) з використанням сучасних методів діагностики, що адекватні поставленим завданням та статистичному аналізу.

Результати проведеного експериментального дослідження дали змогу встановити особливості впливу аспірату червоного кісткового мозку на динаміку структурних та функціональних змін скелетних м'язів кінцівки після перенесеної денервації та на етапах реіннерваційного процесу. Визначено що введення аспірату кісткового мозку зменшує прояви денерваційних ускладнень (трофічні виразки, ознаки аутофагії сегментів кінцівки) та набряк цільових м'язів в ранньому денерваційному періоді. Зареєстровано більшу кількість потенціалів рухових одиниць в групах тварин де виконували введення аспірату кісткового мозку. Крім того визначено що введення аспірату сприяє проростанню більшої кількості аксонів через зону шва нерву в ранньому періоді, зменшує прояви гіпотрофії та дегенерації міоцитів, знижує рівні продуктів пероксидації ліпідів та підвищує рівень каталазної активності. Показано основні клінічні прояви денервації кінцівки такі як трофічні виразки, ознаки аутофагії сегментів кінцівки, переломи кісток гомілки та їх незрощення. В ході експериментального дослідження продемонстровано, що введення аспірату червоного кісткового мозку зменшує прояви денервації кінцівки, набряк скелетних м'язів та вираженість проявів гіпотрофії.

За допомогою нейрофізіологічних методів, голкової електронейроміографії, продемонстровано характер перебігу денерваційно-реіннерваційного процесу в скелетних м'язах, та вплив введення аспірату кісткового мозку на цей процес. Виявлено що віддалене введення аспірату

кісткового мозку (в умовах експерименту це термін 7 тижнів) – сприяє покращенню реіннервації, що проявлялось у вигляді реєстрації більшої кількості потенціалів рухових одиниць. Проте параметри потенціалів рухових одиниць як при введенні аспірату кісткового мозку так і без – залишались співставними та співвідносились з відповідними стадіями денерваційно-реіннерваційного процесу.

При аналізі даних отриманих рентгенологічними методами такими як комп'ютерна та магнітно-резонансна томографія визначено що введення аспірату кісткового мозку зменшує прояви набряку м'язової тканини, що опосередковано може свідчити про позитивний вплив на сповільнення прогресії гіпотрофії цільових м'язів при їх денервації.

Вивчені морфологічні зміни в сідничному нерві після його перетину та нейрорафії, та вплив на регенерацію нерву введення аспірату червоного кісткового мозку в цільові м'язи. Проростання аксонів в дистальний сегмент нерву виявлено у всіх випадках, проте, отримані дані вказують, що введення аспірату кісткового мозку сприяло покращенню динаміки регенерації аксонів, та позитивно впливало на реіннервацію скелетного м'яза. Цікавим спостереженням є те, що введення аспірату кісткового мозку покращувало щільність проростання нервових волокон через зону шва на ранньому етапі, проте вже у другий термін експериментального дослідження (12 тижнів) різниці між групами, яким вводився аспірат кісткового мозку виявлено не було. Також виявлено більшу щільність проростання аксонів периферичного нерву у м'яз, що демонструє кращу реіннервацію під дією аспірату кісткового мозку. Наведені дані можна розглядати як морфологічний субстрат, що відображений голковою електронейроміографією.

Також одержані в ході експерименту морфологічні та ультраструктурні дані дали можливість сформулювати гіпотезу виникнення у денервованих м'язах стану рівноваги між процесами регенерації та гіпотрофії м'язової тканини. Проявом цього стану є одночасне зменшення діаметру та деструкція

одних м'язових волокон та гіпертрофія інших. Відмічено що введення аспірату червоного кісткового мозку дозволяє пролонгувати період рівноваги між процесами дегенерації та регенерації у денервованому скелетному м'язі шляхом уповільнення деструкції м'язових волокон, тим самим покращити перспективи реіннерваційного процесу.

Вивчено динаміку змін ферментативної та антиоксидантної систем скелетного м'яза після перетину та відновлення сідничного нерву, а також вплив аспірату червоного кісткового мозку на ці системи. Так визначено, що продукти пероксидації ліпідів проградієнтно зростали у всі терміни, проте введення клітин червоного кісткового мозку дозволило зменшити їх рівень, як шляхом покращення їх утилізації, так і пригнічення їх синтезу. Крім того зареєстровано зростання активності каталази, як прояв активації антиоксидантної системи. Виявлено що введення аспірату червоного кісткового мозку позитивно впливає на біохімічні захисні механізми при денерваційному ураженні скелетних м'язів.

Таким чином у роботі проведено аналіз динаміки розвитку гіпотрофічних змін у скелетних м'язах після денервації та на етапах реіннерваційного процесу під впливом аспірату червоного кісткового мозку. Досліджено як загальні клінічні прояви денервації кінцівки, так і морфофункціональні зміни (за допомогою таких методів, як голкова електронейроміографія, комп'ютерна та магнітно резонансна томографії, гістологічні та ультраструктурні зміни, а також динаміка змін перекисно-відновного стану) цільових м'язів тазових кінцівок дослідних тварин, а також визначено, який вплив має введення аспірату кісткового мозку на зазначені вище показники. Експериментальне вивчення функціональних, рентгенологічних, морфологічних та біохімічних змін у скелетних м'язах гомілки дозволило виявити певний позитивний вплив від введення аспірату червоного кісткового мозку, а саме: зменшення прояву набряку скелетних м'язів, збільшення кількості потенціалів рухових одиниць, зменшення проявів

некроптозу та дегенерації міоцитів, зменшення кількості продуктів пероксидації ліпідів та зростання активності антиоксидантних систем.

Усі наукові положення, висновки і рекомендації, що випливають із отриманих результатів, обґрунтовані та достовірні.

5. Наукове та практичне значення роботи.

Наукова повизна:

Вперше отримано наукові дані щодо впливу аспірату кісткового мозку на регенеративний потенціал скелетних м'язів в денерваційно-реіннерваційний період. Виявлено що введення аспірату кісткового мозку сприяє зменшенню клінічних проявів денервації кінцівки (спостерігається менша кількість ускладнень та їх легший перебіг – 14 балів ускладнень в 1 групі, в той час як 6 балів у другій, та 8 балів у третій), реєструється більша кількість потенціалів рухових одиниць шляхом голкової електронейроміографії. Окрім того нормалізує біохімічні показники продуктів пероксидації ліпідів (показники метаболічних змін у скелетному м'язі що зростають при їх пошкодженні, реєструються достовірно ($p < 0,05$) менші рівні продуктів пероксидації ліпідів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою у 2 та 3 групах в порівнянні з першою) та підвищує активність каталази (активація антиоксидантної захисної системи), а також сприяє більш тривалому перебігу періоду рівноваги між гіпотрофією та регенерацією що проявлялось у зменшенні проявів гіпотрофії та деструкції міоцитів і 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 за допомогою комп'ютерної та магнітно-резонансної томографії. Продемонстровано що відстрочене введення аспірату червоного кісткового мозку достовірно ($p < 0,05$) зменшує набряк денервованих цільових м'язів кінцівки за даними КТ та МРТ.

Відмічали більший загальний рівень вираженості МР-сигналу з м'язів в режимі T2 в першій групі (медіана – 197,26%), у порівнянні з другою (190,02%) та третьою групами (170,23%).

Вперше в умовах експерименту проведено порівняльний аналіз впливу термінів введення аспірату кісткового мозку на перебіг репаративно-відновних процесів у м'язовій тканині під час денерваційно-реіннерваційного періоду. Продемонстровано що введення аспірату кісткового мозку в гострий період (в умовах експерименту – під час первинного хірургічного втручання) сприяє зменшенню проявів гіпотрофії та набряку цільових м'язів, в той час як його введення у віддалений період – покращує їх реіннервацію (реєстрація більшої кількості потенціалів рухових одиниць).

Виявлено деякі ефекти (такі як збереження довжини саркомерів та кількості скоротливих міофібрил, зменшення продуктів пероксидації ліпідів та збільшення рівнів каталази) впливу аспірату кісткового мозку на перебіг процесу атрофії м'язової тканини у денерваційно-реіннерваційний період. За даними електронної мікроскопії виявлено достовірно ($p < 0,05$) більшу середню довжину саркомерів у 1 групі як прояв їх деструкції та порушення організації актин-міозинових комплексів, чого не спостерігалось в другій та третій групах.

За допомогою нейрофізіологічних методів дослідження виявлено що введення аспірату кісткового мозку сприяє покращенню реіннерваційних процесів у м'язах, що проявляється реєстрацією більшої кількості потенціалів рухових одиниць на всіх етапах експериментального дослідження (у термін 8 тижнів: 1 група – $8 \pm 0,94$, 2 група – $7 \pm 1,67$, 3 група – $15 \pm 1,26$; 12 тижнів: 1 група – $28 \pm 3,30$, 2 група – $43 \pm 1,46$, 3 група – $46 \pm 3,90$; 16 тижнів: 1 група – $38 \pm 1,25$, 2 група – $44 \pm 1,60$, 3 група – $51 \pm 2,50$).

Вперше на основі експериментальних та біохімічних досліджень було вивчено стан пероксидації та ферментів антиоксидантної системи скелетних м'язів в денерваційно-реіннерваційному періоді за умов введення у м'язову тканину аспірату кісткового мозку. Виявлено що атрофія скелетних м'язів

характеризувалась різким збільшенням рівня продуктів пероксидації ліпідів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою на 12 і 16 тижні та активності каталази на 12 тижні, а зміни біохімічних показників частково нормалізувались після застосування аспірату кісткового мозку, у більшій мірі при відтермінованому введенні.

Практичне значення отриманих результатів та їх впровадження в практику.

На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення аспірату кісткового мозку в цільові скелетні м'язи з метою покращення функціональних результатів відновних операцій при ушкодженнях периферичних нервів.

6. Використання результатів роботи.

В практиці відділу «Мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки» ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» застосовано використання аспірату червоного кісткового мозку в цільові скелетні м'язи кінцівок при реконструктивних хірургічних втручаннях на периферичних нервах.

7. Повнота викладення матеріалів дисертації в публікаціях та особистий внесок у них автора.

Матеріали дисертаційної роботи Лисака А.С. повністю висвітлені в опублікованих наукових працях. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових праць, з них індексуються у реферативній базі Scopus – 1 стаття, у виданнях що видаються в країнах Європейського Союзу – 1 стаття, у виданнях, включених до переліку наукових фахових видань ДАК МОН України – 3 статті, 9 тез в матеріалах з'їздів та конференцій.

Список публікацій за темою дисертації:

1. Lysak, A., Savosko, S., Strafun, S., Utko, N., Makarenko, O. (2022). Effect of bone marrow aspirate in denervation-induced skeletal muscle atrophy. *Wiadomości Lekarskie Medical Advances*, 75(3), 634-640. <https://doi.org/10.36740/WLek202203112>
2. Strafun, S., Gaiko, O., Halii, Y., Lysak, A. (2020). Study of bone marrow aspirate injection effect on denervated muscle according to electromyography studies. *EUREKA: Health Sciences*, (6), 24-30. <https://doi.org/10.21303/2504-5679.2020.001499>
3. Лисак, А.С., (2019). Вплив пунктату кісткового мозку на відновлення пошкодженого сідничого нерва (експериментальне дослідження). *Morphologia*, 13(3), 66-69. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.66-69>
4. Страфун, С.С., Лисак, А.С., Третьяков, Р.А. (2021). Вивчення впливу аспірату кісткового мозку на денерований м'яз за даними КТ та МРТ досліджень. *Вісник Ортопедії, Травматології та Протезування*, 111(4), 28-35. <https://doi.org/10.37647/0132-2486-2021-111-4-28-35>
5. Страфун, С.С., Лисак, А.С., Гузоватий, О.Ю. (2022). Вивчення в експерименті впливу введення аспірату кісткового мозку в денерований м'яз (клінічні прояви денервації кінцівки). *Вісник Ортопедії, Травматології та Протезування*, 113(2), 4-10. <https://doi.org/10.37647/0132-2486-2022-113-2-4-10>

8. Апробація матеріалів дослідження.

Результати досліджень були висвітлені на Міжнародному конгресі хірургів кисті «14th IFSSH 11th IFSHT TRIENNIAL CONGRESS COMBINED FESSH CONGRESS 2019» (м. Берлін, Німеччина, 2019 рік), третій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 2019 рік), XVIII з'їзді ортопедів-травматології України (м. Івано-Франківськи, 2019 рік), Міжнародному конгресі хірургів кисті FESSH-ON(line)-WEEK (м. Базель, Швейцарія, 2020 рік), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Нейроортопедія: актуальні питання сьогодення та перспективи розвитку» (м.

Львів, 2020 рік), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративні технології в травматології та ортопедії» (м. Київ, 2021 рік), засіданні Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (м. Київ, 2021 рік), Двадцять другому міжнародному симпозиумі з хірургії плечового сплетення «22nd International Symposium on Brachial Plexus Surgery» (м. Берлін, Німеччина, 2022 рік), Міжнародному конгресі хірургів кисті «IFSSH, IFSHT & FESSH Combined Congress» (м. Лондон, Великобританія, 2022 рік), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «The 23rd EFORT Annual Congress» (м. Лісабон, Португалія, 2022 рік), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» (Київ, 2023).

Оцінка мови та стилю дисертації.

Дисертаційна робота Лисака Андрія Сергійовича «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» написана українською мовою в науковому стилі, грамотно та доступно для сприйняття.

9. Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона надається до захисту.

Дисертація Лисака А.С. на здобуття ступеня доктора філософії «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» є закінченою науково-дослідною роботою, зміст якої відповідає її назві, галузі знань 22 Охорона здоров'я та спеціальності 222 Медицина.

10. Рекомендація дисертації до захисту.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина аспіранта заочної форми навчання Лисака А.С. «Вплив аспірату кісткового мозку на скелетний м'яз в денерваційно-реіннерваційний період (експериментальне дослідження)» є завершеною науковою працею, що виконана здобувачем особисто, має наукову новизну, теоретичне та практичне значення.

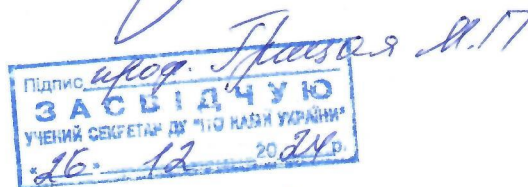
У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання ортопедії і травматології, а саме покращення результатів хірургічного лікування хворих з травмами периферичних нервів кінцівок шляхом введення аспірату кісткового мозку в цільові скелетні м'язи кінцівок, що має істотне значення для галузі знань Охорона здоров'я, спеціальності Медицина.

Дисертація Лисака Андрія Сергійовича повністю відповідає вимогам п.6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 і може бути подана до разової спеціалізованої вченої ради для офіційного захисту.

Голова Проблемної комісії

д. мед. н., професор

Грицай М.П.



Мені Галужко Л.М.
Ученій секретар
ДУ "Укробсерв"
Травматології та
ортопедії НААН України