

Державна установа «Інститут тавматології та ортопедії
Національної академії медичних наук України»

ГАЙОВИЧ ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 616.833.58-089.844-092.9

**АУТОПЛАСТИКА ДЕФЕКТІВ НЕРВІВ З ЗАСТОСУВАННЯМ
ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА ПУНКТАТУ КІСТКОВОГО МОЗКУ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.21 - травматологія та ортопедія

Автореферат дисертації
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут травматології та ортопедії Національної академії медичних наук України».

Науковий керівник:

член-кореспондент НАМН України, професор **Страфун Сергій Семенович**,

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», заступник директора з наукової роботи, завідувач відділу мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Борзих Олександр Володимирович**, Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь» МО України, м. Київ, лікар ортопед-травматолог

доктор медичних наук, доцент, **Медведєв Володимир Вікторович**, доцент кафедри нейрохірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Захист відбудеться «24» жовтня 2018 р. о 14.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.606.01, при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (01601, м.Київ, вул. Бульварно-Кудрявська, 27).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (01601, м.Київ, вул. Бульварно-Кудрявська, 27).

Автореферат розісланий “_21_”_вересня_2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



Ю.М. Гук

Підп. до друку 20.09.2018. Формат 60x90 1/16. Папір. Офс. Гарнітура «Таймс».
Ум.друк.арк. 0,9. Обл.-вид. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Зам. 205.

Віддруковано у видавництві ТОВ «ЕТНА-1» з оригіналів автора.
Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.
01034, Київ-31, вул. Ярославів Вал, 19, оф.12 тел. 235-95-94

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Від 3 до 10% гострих травм ускладнюються ушкодженням периферичних нервів. Це пацієнти молодого працездатного віку. Наслідком цих ушкоджень є втрата функції кінцівки, а лікування призводить до незадовільних результатів та втрати працездатності в більш ніж 60% випадків. Ушкодження нерва, як правило, поєднується з травмами кісток скелету (50-79%), ушкодженням судин (23%), м'язів і сухожилків (20-22%). Таке ушкодження навколишніх тканин призводить до фіброзування тканин в зоні ушкодження, погіршує процеси регенерації та знижує функціональний результат відновлення (Сидорович Р.Р., 2003; Борзих О.В., 2007). В результаті пошкоджень від 27% до 50% постраждалих стають інвалідами або змушені змінити професію (Берснев В.П., 2006; Visser Ph.A., 1980; Weaver F.A., 1996). Актуальність проблеми ушкоджень нервів особливо зростає зі зростанням кількості вогнепальних та мінно-вибухових травм. Такі ушкодження часто призводять до утворення первинних дефектів нерва вириваючи його фрагмент. Крім того ці травмівні агенти ушкоджують навколишні м'які тканини та спричиняють переломи кісток, первинне забруднення рани та гнійні процеси, які призводять до значного фіброзування зони ушкодження та погіршують трофічні процеси в зоні регенерації нерву.

Пошкодження нервів, як правило, своєчасно не діагностують через важкість стану пацієнтів, поліморфність скарг та больового синдрому. Тактичні помилки пов'язані з неправильними діями лікаря при встановленому діагнозі пошкодження нерва спостерігають у 63% випадків. (Валерко В.Г., 2006).

Сучасні експериментальні дослідження показують покращення регенерації нерва під дією недиференційованих та стовбурових клітин диференційованих в нейрогліальному напрямку. Дослідження показали, що збагачений тромбоцитами гель здатний стимулювати регенерацію нерва через проксимальний та дистальний шов на 76,7% краще порівняно з контрольною групою. Подальшим розвитком є використання жирової тканини та пунктату кісткового мозку як більш концентрованих джерел факторів росту та стовбурових клітин. Крім того жирова тканина покращує ковзні властивості нерва, попереджаючи надмірне його здавлення нерву рубцем в зоні пластики.

Але подібні дослідження є спорадичними, проводилися лише з використанням якоїсь однієї технології та без порівняння їх поєднання. Тому необхідним є проведення порівняльних досліджень які б показали ефективність протікання репаративно-відновних процесів в зоні пластики нерва в умовах застосування жирової тканини та пунктату кісткового мозку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в межах наукової тематики «Розробити

технологію лікування та реабілітації хворих з бойовою поліструктурною травмою кінцівок» № держ.реєстрації 0115U005854

Мета дослідження: дослідити вплив жирової тканини та аспірату кісткового мозку на відновлення нерва та денерваційні процеси у м'язах, розробити оптимальну технологію, яка б дозволила покращити результати пластики периферичних нервів для впровадження в клінічну практику.

Завдання:

- В експерименті дослідити вплив концентрованого аспірату кісткового мозку на зону пластики дефекту нерва.
- В експерименті дослідити вплив жирової тканини на зону пластики дефекту нерва.
- В експерименті дослідити вплив суміші жирової тканини та аспірату кісткового мозку на зону пластики дефекту нерва.
- На основі результатів гістологічних досліджень в умовах експерименту дослідити кількісні та якісні показники репаративно-відновних процесів для подальшої їх екстраполяції для застосування в клінічній практиці.
- На основі результатів гістологічних досліджень дослідити вплив жирової тканини та концентрованого аспірату кісткового мозку на процеси формування фіброзних тканин навколо зони пластики нерва. **Об'єкт дослідження:** ушкоджені нерви та навколишні тканини в зоні пластики дефекту нерва.

Предмет дослідження: репаративно-відновні процеси при пластичі дефекту нерва та процеси формування рубців в зоні пластики в умовах застосування аспірату кісткового мозку та жирової тканини.

Наукова новизна роботи:

- вперше в умовах експерименту досліджено вплив різних клітинних технологій на процеси регенерації нерву через трансплатат великого розміру, доведено, що застосування жирової тканини та аспірату кісткового мозку покращує регенерацію аксонів (кількість аксонів, що проросли через дистальний шов через 3 місяці була в дослідних групах, де нерв після пластики вкривали жировою тканиною, аспіратом кісткового мозку або їх сумішшю була на 35-39% вищою ніж в контрольній групі);
- вперше отримані результати показали різний механізм дії аспірату кісткового мозку та жирової тканини на регенерацію нерва через трансплатат. Аспірат кісткового мозку, зумовлюючи неоангіогенез в зоні застосування, в більшій мірі впливає на трофічні процеси. Так, активність DT-діафрази через 3 місяці в групі застосування кісткового мозку була в 3,3 рази вищою, ніж в контрольній групі

(майже наближаючись до норми) в той час як при застосуванні жирової тканини її активність були лише в 1,2 рази вищою за контроль. Комбіноване застосування показало найкращі результати нормалізації біохімічних процесів та активації регенерації-через 1 та 3 місяці після пластики;

- вперше в результаті гістологічних, морфометричних та біохімічних досліджень доведено, що застосування жирової тканини та кісткового мозку впливає не лише безпосередньо на нерв, а й зменшує ступінь нейродистрофічних процесів у м'язах - в групі застосування кісткового мозку та жирової тканини через 3 місяці площа поперечного перерізу м'язових волокон була в 2,5-2,8 разів вищою ніж в контролі. При цьому в м'язових волокнах груп, де застосовувалися жирова тканина та кістковий мозок, була площа клітинних ядер в 1,5-3 рази порівняно з нормою, що свідчить про активні процеси регенерації;
- вперше гістологічно доведено, що застосування жирової тканини по типу ліпоаспірату в комбінації з кістковим мозком дозволяє сформувати навколо нерва муфту (по типу ковзної системи нерва), що ефективно запобігає фіброзуванню параневральної тканини та вберігає від вторинної компресії;
- на основі експериментальних, гістологічних та біохімічних досліджень удосконалено метод оперативного відновлення нерва після його ушкодження та обґрунтовано застосування суміші жирової тканини та аспірату кісткового мозку як такої що комплексно оптимізує процеси регенерації ушкодженого нерва через нейротрансплантат та зменшує ступінь нейродистрофічних процесів у м'язах;

Практичне значення одержаних результатів:

На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію відновних операцій при ушкодженнях нервів з застосуванням суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини, що дозволило значно покращити функцію та результати лікування пацієнтів з ушкодженнями нервів.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою працею здобувача. Автором дисертаційної роботи особисто проведено аналіз сучасного стану питання лікування ушкоджень периферійних нервів на різних рівнях в різні строки після травми, з різними розмірами дефектів та в залежності від тяжкості вихідного стану. В експерименті досліджено вплив різних клітинних технологій на процеси регенерації нерва через трансплантат великого розміру, проведено їх порівняльну оцінку, вивчено вплив на денерваційні процеси у м'язах на ранніх стадіях регенерації та у віддаленому періоді. Отримані дані підтверджені за допомогою

гістологічних та біохімічних досліджень. З урахуванням отриманих результатів розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію покращення результатів відновних операцій при ушкодженнях нерва з застосуванням суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини. В практиці відділу «Мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки» ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України» застосовано використання суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини при реконструктивних втручаннях на периферійних нервах.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень були висвітлені на вченій раді ДУ «ІТО НАМНУ» (Київ 2018); на другій науково-практичній конференції з міжнародною участю (для молодих вчених) «Актуальні проблеми сучасної ортопедії та травматології» (м.Чернігів, 14 – 15 травня 2015); засіданні товариства ортопедів травматологів Києва та Київської області. - . Київ. - 2016; XVII з'їзді ортопедів-травматологів України (м. Київ, 5 – 7 жовтня 2016); науково-практичній конференції "Міждисциплінарні проблеми ревматології". - . Київ. – 2016; Міжнародному симпозиумі "Реконструкція периферичних нервів після тяжких ушкоджень. Неврологія та реабілітація". - . Київ. – 2016; Міжнародній конференції «Регенеративної технології в сучасній медицині» Одеса 2017; 6th Vienna Symposium on Surgery of Peripheral Nerves – Відень 2017.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових праць у фахових наукових виданнях з переліку ДАК України. Отримано патент №122507 на спосіб хірургічного лікування пошкоджень периферичного нерва.

Структура та обсяг роботи. Дисертація викладена на 167 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, 6 розділів, висновків. Ілюстрована 37 рисунками і 13 таблицями. Список літератури містить 130 джерел інформації, з них кирилицею 31 і 99 - латиницею.

Дисертаційна робота виконана у відділі мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України».

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі розглянуто актуальний стан проблеми відновних операцій на нервах, та питання застосування різноманітних тканинних технологій та методик пластики нервів для заміщення їх дефектів, сформульовано мету і завдання дослідження, наукову новизну і практичну цінність.

У розділі 1 «Матеріали та методи» описується методика проведення експерименту та досліджень: Експеримент проведений на 5 статевозрілих кролях, вагою 3,2-3,5 кг. Тварини були розділені на 5 груп: Група 1 -

контрольна- без ушкодження сідничого нерва; група 2 група виконувалася аутопластика сідничого нерва; група 3- аутопластика нерва і трансплантація жирової тканини; група 4- пластика нерва поєднувалася з застосуванням суспензії кісткового мозку; група 5 пластика нерва з комбінованим застосуванням клітинних суспензій. Тварини виводилися з експерименту в 2 серії- в термін 1 та 3 місяці після операції (по 25 кролів)

Тваринам наносили дефект сідничого нерва довжиною 1 см, та здійснювали пластику виділеним сегментом нерва. В контрольній групі нерв залишався неушкодженим. В другій дослідній групі виконувалася лише аутопластика дефекту нерва. В третій дослідній групі в зону навколо нерва після пластики наносили оброблену жирову тканину отриману з зони великого сальника. В четвертій групі приготувану суспензію кісткового мозку отриману аспірацією з проксимального відділу стегнової кістки наносили навколо сегмента пластики сідничого нерва. В четвертій групі зону пластики вкривали сумішшю жирової тканини та аспірату кісткового мозку. Премедикацію та знеболення дослідних тварин здійснювали шляхом введення тіопенталу натрію (і.р., 60 мг/кг). Експериментальні маніпуляції проводили відповідно до правил “Regulations on the animal use of in research biomedical research”, “European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes”, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”.

Гістологічне дослідження. Через 1 місяць після проведеної операції тварин повторного наркотизували та здійснювали видалення і підготовку окремих сегментів травмованого сідничого нерва на м'язів гомілки для гістологічного дослідження. Порівняння отриманих результатів здійснювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівень статистичної значущості був встановлений на рівні $P < 0,05$.

Біохімічне дослідження:

- визначення рівня білка за методом Lowry.
- визначення активності каталази методом Aebi.
- визначення активності супероксиддисмутази за методом Mirsa.
- визначення концентрації ТБК-активних продуктів за методом Uchiyama.
- визначення концентрації дієнових кон'югатів.
- визначення концентрації сульфгідрильних (SH) груп за методом Елмана.
- визначення активності глутатіонпероксидази.
- визначення активності DT-діафрази.
- визначення концентрації карбонільних груп.

У розділі 2 «Гістометаболічні закономірності регенерації травматично ушкодженого нерва за умов аутопластики» проведений аналіз

морфометричних та гістологічних досліджень інтактного нерву, та дослідних груп

Гістологія сідничого нерва інтактної групи тварин представлена щільно організованими нервовими волокнами, системою кровоносних мікросудин і стромальними елементами. Кількісна щільність нервових волокон в інтактному нерві становила $9601,0 \pm 285,5$ од/мм³.

Гістоструктура нерва в групі 2- після аутопластики мала іншу архітекtonіку. На 4 тижень після аутопластики сідничого нерва зона ушкодження характеризувалась відновленням анатомічної будови нерва, чітко реєструвались проксимальний і дистальний шви, сегмент пластики нерва. На гістологічному рівні фасцикули проксимального і дистального сегментів, зона аутопластики суттєво розрізнялися.

Епіневрій проксимального сегмента містив збільшену щільність активованих фіброblastів та колагенових волокон, розростання жирової тканини, значну кількість стазованих мікросудин. Нервові волокна орієнтовані кластерами, їх щільність зменшена, реєструються активовані ізольовані нейролемоцити, овоїди дегенерації ушкоджених осьових циліндрів. Між нервовими волокнами локалізовані пучки сполучної тканини. Муфти мієлінової оболонки нервових волокон меншого діаметру і довжини. Щільність нервових волокон становила $4895,1 \pm 331,7$ од/мм³ (50,9% від контролю, $p < 0,05$).

Навколо шва нервові волокна регенерували лише поодинокими кластерами, що обумовлено формуванням гліально-фіброblastного рубця. Нейролемоцити орієнтовані кластерами вздовж вісі нерва у вигляді стрічок Бюнгнера. Епіневрій характеризувався збільшенням васкуляризації та щільності пучків колагенових волокон, фіброblastів і адипоцитів.

Гістоструктура фрагмента аутопластики була гетероморфною: щільний епіневрій, численні розгалужені кровоносні судини, активовані нейролемоцити, поодинокі кластери регенеруючих нервових волокон. Середня щільність нервових волокон становила $1501,0 \pm 121,1$ од/мм³ (15,6% від контролю, $p < 0,05$).

Ділянка дистального шва – посттравматичною активацією нейролемоцитів, інкапсуляцією шва, реорганізацією сполучної тканини нерва.

Морфологічна картина дистального сегмента не мала суттєвої різниці за темпами посттравматичної регенерації із сегментом аутопластики.

Вплив трансплантації жирової тканини (ТЖТ) на регенерацію сідничого нерва. В групі 3 Через 30 діб після аутопластики великого дефекту сідничого нерва та ТЖТ реєстрували поліморфізм посттравматичної регенерації різних досліджуваних сегментів. Макроскопічно виділені зони нерва чітко розрізнялись. Ділянка нанесення жирової тканини за об'ємом сполучної тканини суттєво відрізнялась. У гістологічних зрізах сідничого

нерва встановлено значне поліпшення і прискорення проростання фасцикул uszkodженого нерва в дистальний сегмент. В проксимальному сегменті встановлено активацію регенерації мікросудин і нервових волокон, їх щільність суттєво збільшилась. Середня щільність нервових волокон становила $6693,7 \pm 269,8$ од/мм³ (69,7% від контролю, $p < 0,05$), що достовірно більше групи порівняння на 19%.

В ділянці проксимального шва, кластери нервових волокон огинали інкапсульований шов і проростали до дистального шва. Мали звивистий контур, були гіперімпрегнованими, орієнтовані вздовж вісі нерва, контактували з чисельними нейролемоцитами. Встановлено достовірне збільшення середньої щільності нервових волокон в ділянці аутопластики до $3029,0 \pm 206,8$ од/мм³ ($p < 0,05$), що майже в 2 рази більше порівняно з групою порівняння.

В ділянці дистального шва відмічено значну щільність колагенових мембран, активованих нейролемоцитів, мікросудин, реєстрували поодинокі регенеруючі осьові циліндри.

Дистальний сегмент нерва характеризувався збільшенням товщини епіневрію, міграцією активованих фібробластів, стазованими мікросудинами. Основний об'єм тканини досліджуваної зони представлений нейролемоцитами, регенерації нервових волокон не встановлено.

Вплив трансплантації кісткового мозку (ТКМ) на регенерацію травмованого сідничого нерва. При дослідженні сідничого нерва в групі 4 після аутопластики і ТКМ засвідчили відновлення анатомічної цілісності нерва і виражені реорганізаційні процеси на гістологічному рівні. У проксимальному сегменті епіневрій мав значну кількість мікросудин, активованих фібробластів. Відмічено суттєве збільшення щільності нервових волокон та їх діаметр. Нервові волокна були гіперімпрегнованими, реєстрували чисельні муфти мієліну. Щільність нервових волокон в проксимальному сегменті становила $7004,7 \pm 350,6$ од/мм³ (72,9% від контролю, $p < 0,05$).

В зоні регенерації нервових волокон в проксимальний шов кластери осьових циліндрів огинали інкапсульований нейролемоцитами шов. Реєстрували активацію нейролемоцитів.

Нервові волокна регенерували досить рівномірно, без формування рекурентних волокон. Епіневрій сегмента аутопластики містив значну кількість кровоносних судин, активовані фібробласти і поодинокі нервові волокна.

Навколо дистального шва локалізовані нейролемоцити і фібробласти, поодинокі кластери нервових волокон. Щільність нервових волокон в зоні аутопластики становила $3245,4 \pm 200,5$ од/мм³ (33,8% від контролю, $p < 0,05$), тобто мала тенденцію до збільшення темпу регенерації порівняно із групою аутопластики з ТЖТ.

Дистальний сегмент нерва характеризувався регенерацією поодиноких нервових волокон і зменшенням щільності дедиференційованих нейролемоцитів. Середній рівень регенерації в дистальний відділ становив $851,9 \pm 54,3$ од/мм³ (8,8% від контролю, $p < 0,05$). Дериватів дегенерованих осьових циліндрів і гліоцитів не реєстрували.

Регенерація сідничого нерва після аутопластики і ТЖТ з ТКМ. Аналіз гістологічного дослідження сідничого нерва в групі 5 після аутопластики і комбінованої ТЖТ з ТКМ показав виражену функціональну активацію нейролемоцитів, проростання нервових волокон в дистальний сегмент нерва і рівень їх ремієлінізації.

В проксимальному відділі епіневрій потовщений. Превалююча більшість нервових волокон були мієліновими. Реєстрували лише поодинокі вільні нейролемоцити. Середня щільність нервових волокон в проксимальному відділі становила $7586,2 \pm 456,1$ од/мм³ (79,0% від контрольного показника, $p < 0,05$).

В ділянці проксимального шва і сегмента аутопластики встановлено функціонально активовані нейролемоцити. Нервові волокна перфоровали посттравматичну гліальну тканину і проростали в дистальний відділ нерва. Кластери регенеруючих осьових циліндрів супроводжували кровоносні судини різного діаметру.

Ступінь регенерації нерва був на рівні $3786,3 \pm 210,7$ од/мм³ (39,4% від контрольного показника, $p < 0,05$). В ділянці переходу неврони в дистальний сегмент реєстрували рекурентні волокна, а інші перфоровали дистальний гліальний рубець і проростали в строму дистального сегмента. Середня кількість нервових волокон становила $906,0 \pm 54,4$ од/мм³ (9,4% від контрольного показника, $p < 0,05$).

Метаболічні зміни ушкодженого сідничого нерва після аутопластики і трансплантації. Розвиток окиснювального стресу і наступне перекисне окиснення структурних компонентів клітин є одним із основних патогенетичних шляхів пошкодження тканин і органів при травматичному і ішемічному ураженні. Підвищення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є також механізмом розвитку різних сигнальних метаболічних ланок. Темпи перебігу вільнорадикальних процесів та їх регуляція перебувають під контролем багатокомпонентної системи антиоксидантного захисту. Основним проявом окиснювального стресу та параметром оцінки рівня патобіохімічних змін є накопичення первинних і вторинних продуктів вільно-радикального окислення. Найбільш інформативними показниками рівня окисного стресу є утворення дієнових кон'югатів (ДК) із окиснених поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), а також малонового діальдегіду (МДА).

У проведених експериментальних дослідженнях було встановлено, що через 1 місяць після ушкодження сидничого нерва та його аутопластики відбувається розвиток ПОЛ та деградація білків у дистальному сегменті нерва, що є результатом травматичного, ішемічного та метаболічного ушкодження.

Після аутопластики нерва рівень ТБК-активних продуктів збільшився у 2,7 разів ($p < 0,05$), ДК – у 3 рази ($p < 0,05$), карбонільних груп – у 2,7 разів ($p < 0,05$), а вміст вільних низькомолекулярних SH-груп був меншим щодо контрольного показника – у 3,8 разів ($p < 0,05$).

При ТЖТ і ТКМ встановлено позитивний вплив застосованих засобів. Так, рівень ТБК-активних продуктів зменшився у 2 і 1,2 рази ($p < 0,05$), ДК – у 1,5 і 1,4 рази ($p < 0,05$), карбонільних груп – у 2,4 і 1,2 рази ($p < 0,05$). Разом з тим вміст вільних низькомолекулярних SH-груп достовірно збільшився у 1,9 і 1,6 разів. При цьому комбіноване застосування цих засобів позитивно вплинуло на рівень утворення/відновлення вільних низькомолекулярних SH-груп (на 36,3% щодо ТЖТ і на 68,9% щодо ТКМ, $p < 0,05$).

В нашому дослідженні активність GPx після травми та аутопластики зменшилася у 1,5 разів ($p < 0,05$). При застосуванні ТЖТ і ТКМ встановлено компенсаторну активацію GPx: активність ферменту зросла у 2,8 і 1,7 разів ($p < 0,05$).

Рівень активності GR у групі кролів після травми достовірно був меншим контрольних значень майже у 2 рази ($p < 0,05$). За умов ТЖТ активність GR достовірно збільшилась у 2,8 разів ($p < 0,05$), а після ТКМ – у 2,1 рази ($p < 0,05$).

У проведених дослідженнях встановлено компенсаторну активацію каталази після аутопластики у 2 рази ($p < 0,05$). Незважаючи на це після ТЖТ і ТКМ встановлено зменшення активності каталази у 1,6 і 1,3 рази ($p < 0,05$).

Активність DT-діафрази після травми була достовірно меншою щодо контрольного показника у 4,4 рази ($p < 0,05$), при ТЖТ і ТКМ достовірно зросла у 1,2 і 3,3 рази ($p < 0,05$), а при їх комбінації збільшилася у 3,6 разів ($p < 0,05$) і досягла рівня контрольної групи.

Застосування ТЖТ підвищувало вплив ТКМ і позитивно вплинуло на рівень продукції ДК ($p < 0,05$), відновлення вільних низькомолекулярних SH-груп ($p < 0,05$) і активність DT-діафрази ($p < 0,05$).

У розділі 3 «Особливості перебігу післятравматичного періоду тривало денервованих скелетних м'язів та шляхи оптимізації їх метаболічної підтримки» наведені результати біохімічних та гістологічних досліджень м'язів через 1 місяць після пластики нерва. Концентрація ТБК-активних продуктів в м'язах на рівні стегна була більше контрольних значень у 1,9 разів, а на рівні гомілки в 3,1 рази ($p < 0,05$). На рівні стегна концентрація дієнових кон'югатів була більшою в середньому у 2 рази, а на рівні гомілки, у 2,5 рази ($p < 0,05$). Ступінь окиснення білкових молекул за показником

концентрації карбонільних груп зріс у 2 і 3,1 разів ($p < 0,05$). Разом з тим, рівень вільних низькомолекулярних пептидних носіїв SH-груп в м'язах гомілки був достовірно меншим порівняно до м'язів стегна на 64,7%, а порівняно до контрольного показника у 1,7 і 2,8 разів ($p < 0,05$) відповідно.

Аналіз змін рівня загального білка в гомогенатах м'язів засвідчив атрофічні процеси на рівні гомілки: вміст протеїнів був достовірно меншим контрольних значень на 12,2% ($p < 0,05$). Разом з цим, встановлено компенсаторну активацію ензимів системи антиоксидантів. Активність каталази на рівні стегна збільшилась у 1,8 разів ($p < 0,05$), а глутатіон пероксидази і глутатіон редуктаза в середньому у 1,6 разів ($p < 0,05$). У м'язах гомілки встановлено активацію лише каталази в 2,5 разів щодо контрольного показника ($p < 0,05$). При цьому активність DT-діафрази в обох випадках достовірно зменшилась в 2 і 3,5 разів, що також є проявом дистрофічних змін органу ($p < 0,05$).

У групі 3 ТЖТ встановлено позитивну динаміку відновлення метаболічного статусу тривало денервованого м'язу. У м'язах кінцівки на рівні міся пластики рівень утворення ТБК-активних продуктів зменшився на 29,8%, концентрація дієнових кон'югатів на 34,4%, а концентрація карбонільних груп на 15,4% ($p < 0,05$). На рівні дистальних м'язів, тобто гомілки, відповідні показники зменшилися відповідно на 46,7%, 33,1% і 34,9%, тобто суттєво менше. При цьому встановлено збільшення рівня низькомолекулярних SH-вмісних антиоксидантів на 34,0% у м'язах стегна і 61,3% - у м'язах гомілки.

Ферментативні системи детоксикації продуктів ПОЛ (каталаза, GPx і GR) відновилися до рівня контрольних показників на рівні аутопластики ($p < 0,05$), а на рівні гомілки відмічено ознаки компенсаторної активації цих ензимів.

В дистальних м'язах щодо рівня аутопластики активність DT-діафрази не досягала контрольного рівня, але була більше порівняно з груп без корекції майже в 2,6 разів ($p < 0,05$).

Рівень генерації продуктів ПОЛ зменшувався у групі 4 під впливом ТКМ: концентрація дієнових кон'югатів була меншою на 25,1% і 20,3% ($p < 0,05$) залежно від рівня скелетного м'язу щодо аутопластики, концентрація ТБК-активних продуктів зменшилася – на 12,7% і 22,1% ($p < 0,05$), а карбонільних груп – на 32,1% і 25,8% ($p < 0,05$) відповідно.

Концентрація низькомолекулярних пептидних SH-груп в м'язах гомілки достовірно зменшився на 38,2% і 37,2% ($p < 0,05$). При цьому ступінь нейтралізації ендogenous антиоксиданту у м'язах гомілки був суттєво вищим порівняно до м'язів стегна (в середньому на 38,3%). В порівнянні із впливом ТЖТ на рівень утворення низькомолекулярних пептидних SH-груп, останній мав достовірно більший вплив на рівні м'язів гомілки (на 14,9%).

Порівняльний аналіз впливу комбінованої трансплантації і ізольованої ТЖТ і ТКМ не показав суттєвої різниці між цими групами 3,4 та 5.

При аналізі гістологічних препаратів контрольної групи було виявлено неушкоджену структуру скелетного м'язу.

У групі 2 тварини, яким було нанесено травму сідничого нерва та його аутопластики, встановлено гетерогенні гіпотрофічні зміни м'язів гомілки. У більшості зразків фрагментів м'язу дистрофічний процес на гістологічному рівні характеризувався зменшенням діаметру м'язових волокон, атрофією волокон, втратою міоядер. Виявлено втрату поперечної посмугованості м'язових волокон, поодиноких та окремих груп м'язових волокон. Товщина м'язових волокон, площа їх поперечного перерізу зменшилась в середньому у 2,7 разів ($p < 0,01$). При цьому достовірно збільшилась кількість міоядер в сімпластах – в середньому на 35,1% ($p < 0,01$). Площа активованих міоядер збільшилась на 37,4% ($p = 0,03$).

У групі 3 ТЖТ встановлено суттєву відміну порівняно до групи лише аутопластики. Загальна структурна організація м'язу залишалась збереженою. Стромальні компоненти м'язу частково порушені, колагенові волокна розшаровані. Відмічено втрату поперечної посмугованості. Більшість м'язових волокон витончені, зменшений їх діаметр. Частина ядер м'язових волокон з ознаками вакуолізації або пікнозу, гіперплазії міоядер не виявлено. При морфометричному аналізі на 18,3% ($p < 0,01$) встановлено збільшення площі поперечного перерізу м'язових волокон.

У дослідній групі 4 ТКМ виявлено різний рівень змін гістологічної організації м'язу. Поперечна посмугованість зберігається лише в деяких волокнах окремих міонів. У деяких випадках реєстрували поздовжнє розщеплення атрофованих волокон. Поширення морфології денервованих м'язів було неоднорідним. Характерною ознакою ТКМ в зону аутопластики було аміотичне розмноження міоядер, яке проявлялося їх суттєвим збільшенням у сімпластах. М'язові волокна з ознаками гіперплазії міоядер зберігали об'єм цитоплазми та рівень профарбованості. Морфометричний аналіз достовірно підтвердив позитивний вплив ТКМ. Зокрема збільшення кількості міоядер в сімпластах на 13,1% ($p = 0,02$), виражену тенденцію збільшення площі функціонально активних ядер (в середньому на рівні 24%).

У групі 5 комплексного застосування ТЖТ і ТКМ після аутопластики також виявлено позитивний перебіг періоду денервації. Гістологічними змінам м'язової гіпотрофії при тривалій денервації були: зміна діаметру м'язових волокон; збільшення кількості міоядер; некроз, деструкція і елімінація окремих м'язових волокон; збільшення сполучної тканини перимізю. Часто реєстрували збільшені в об'ємі волокна з активованими ядрами, що втратили свою нормальну поперечну смугастість. Порівнюючи з групою пластики нерва встановлено суттєву різницю за досліджуваними показниками: площа

поперечного перерізу м'язових волокон збільшилася на 79,2% ($p < 0,01$), кількість міо ядер на симпласт збільшилася в середньому на 40,6% ($p < 0,01$), а площа активованих ядер на 43,5% ($p < 0,01$).

Порівняльний аналіз із групами ізолюваного застосування ТЖТ і ТКМ отримано наступні дані: товщина м'язових волокон в середньому збільшилася в 1,4 і 1,5 разів ($p < 0,01$), число міо ядер на симпласт – в 1,5 і 1,2 разів ($p < 0,01$), площа ядер м'язових волокон збільшилась майже на 20% щодо групи з ТЖТ і виражену тенденцію до групи ТКМ. Тобто комбіноване нанесення на зону травми обох досліджуваних суспензій в більшій мірі, ніж їх ізолюване застосування дозволяє зменшити темпи розвитку гіпотрофічного процесу.

У розділі 4 «Результати дослідження відновних процесів у травматично ушкодженому сідничому нерві та м'язах гомілки у віддаленому періоді» приводяться результати гістологічних та морфометричних досліджень фрагментів нерва та м'язів через 3 місяці після пластики. Через 3 місяці після пластики дефекту сідничого нерва встановлено значний рівень регенерації нерва у дистальний сегмент. Середня кількість нервових волокон становила $8478,7 \pm 193,6$ од/мм³, що складає 88,3% ($p < 0,05$) від контрольного показника і на 73,2% більше порівняно із попереднім терміном дослідження ($p < 0,05$).

У дистальному сегменті сідничого нерва відмічено аналогічну ситуацію. Якщо у терміни 1 місяця ознак регенерації нервових волокон не реєстрували, то у терміни 3 місяців регенерувало в середньому $4773,4 \pm 229,6$ од/мм³ ($p < 0,05$), тобто 49,7% ($p < 0,05$) від контрольного показника.

У групі 4 тварин з ТКМ рівень регенерації був дещо кращим. Кількість нервових волокон у проксимальному відділі сідничого нерва була меншою від групи 1 (контрольної) на 23,6% ($7329,2 \pm 343,9$ од/мм³) і на 13,5% ($p < 0,05$) порівняно з групою 3 пластикою без ТКМ.

У дистальному відрізьку нерва число регенованих нервових волокон становило $6166,3 \pm 255,9$ од/мм³, що на 29,1% більше від групи 2 ($p < 0,05$), але не досягало рівня групи 1 (контролю- всього 64,2%, $p < 0,05$).

У групі 3 тварин з ТЖТ у проксимальному та дистальному сегментах нерва реєстрували фасцикули з частково збереженими елементами строми. В фасцикулах відмічену значну щільність регенованих нервових волокон, рівень ремієлінізації зменшувався в дистальному напрямку. За даними морфометрії кількість нервових волокон у проксимальному відділі становила $8018,9 \pm 346,3$ од/мм³, менше від контролю на 16,4% ($p < 0,05$).

У дистальному відрізьку нерва число регенованих нервових волокон становило $6477,3 \pm 329,5$ од/мм³, що на 35,6% більше від групи 2 ($p < 0,05$), але не досягало рівня групи 1 контролю (всього 67,4% від контролю, $p < 0,05$).

У групі 5 з комплексною ТКМ і ТЖТ структура нерва на рівні проксимального та дистального відрізьків була достатньо збереженою, в

фасцикулах реєстрували значну кількість регенованих нервових волокон. Явищ вторинної дегенерації не відмічено.

За даними морфометрії кількість нервових волокон у дистальному відділі становила $9154,8 \pm 299,0$ од/мм³, що складає 95,3% від показника у інтактних тварин. Так порівняно з травмою без трансплантації рівень регенерації був більшим на 7,9% ($p < 0,05$).

У дистальному відділі нерва кількість нервових волокон збільшилась до $6680,1 \pm 337,1$ од/мм³, тобто на 39,9% більше щодо показника у групі 1 порівняння ($p < 0,05$). Порівнюючи із даними, отриманими у терміни 1-го місяця слід зазначити, що рівень регенерації нерва збільшився майже у 6,5-7 разів.

При дослідженні гістологічних змін у м'язах гомілки дослідних груп тварин встановлено прогресування атрофічних змін порівняно з терміном 1-го місяця. У тварин, яким після пластики нерва не здійснювали трансплантацію, структурна організація м'язу як органу була суттєво порушена. Площа поперечного перерізу становила $589,1 \pm 50,1$ мкм², що у 2,5 рази менше від контролю ($p < 0,05$). Площа міо ядер становила $89,4 \pm 9,96$ мкм, тобто більше від контрольного показника на 57,9% ($p < 0,05$), а кількість міо ядер на м'язове волокно зменшилась до $1,80 \pm 0,34$ од ($p < 0,05$).

У групі 4 тварин з ТКМ у міонах домінував некроз за типом вакуолярного розпаду, у збережених волокнах розподіл міо ядер був не рівномірним: реєстрували поодинокі міо ядра або вогнищеве збільшення їх щільності. Площа поперечного перерізу м'язового волокна становила $1663,3 \pm 179,5$ мкм² і не відрізнялась від контрольного показника, а у порівнянні із даними у групі порівняння – більше у 2,8 рази ($p < 0,05$). Кількість міо ядер на волокно склала $4,06 \pm 0,46$ од, що у 2,2 рази більше, ніж у групі 2 тварин з пластикою без ТКМ. При цьому площа міо ядер також була більшою і становила $155,0 \pm 8,17$ мкм², в тому числі перевищуючи контрольний показник.

У групі 3 тварин з ТЖТ поперечна позмугованість реєструвалась у поодиноких волокнах, міо ядра розподілені нерівномірно. Площа поперечного перерізу м'язового волокна становила $1740,1 \pm 299,7$ мкм², що у 2,9 раз більше порівняно з групою 2 без ТЖТ ($p < 0,05$). Площа міо ядер становила $159,9 \pm 6,27$ мкм, що більше від групи 2 у 1,7 разів, а з групою контролю у 2,8 разів. При цьому кількість міо ядер на м'язове волокно збільшилась у 1,8 раз і становила $3,40 \pm 0,63$ од.

У групі 5 з комплексним застосуванням ТКМ з ТЖТ характер атрофічного процесу полягав в одночасній атрофії одних волокон і набряку інших, в окремих волокнах некроз розвивався за типом вакуолярного розпаду. Площа поперечного перерізу м'язових волокон була більшою від показника у групі 2 у 2,5 рази і становила $1514,1 \pm 463,1$ мкм² ($p < 0,05$), що головним чином пов'язано з набряком значної кількості волокон. Середня площа зменшилась на 18,7% і становила $72,6 \pm 4,28$ мкм² ($p < 0,05$). При цьому число міо ядер у

збережених волокнах залишалась суттєво збільшеним, майже у 2 рази ($3,53 \pm 0,39$ од, $p < 0,05$).

У розділі 5 «Метаболічні зміни травматично ушкодженого нерва та денервованих м'язів після пластики у віддалений період» показані результати біохімічних досліджень фрагменту нерва та м'язів через 3 місяці після пластики. Рівень ТБК-ативних продуктів, ДК, карбонільних груп залишався високим порівняно із контрольним показником в середньому у 1,6-2,2 рази ($p < 0,05$). Порівняно із показником на 1-й місяць після травми перші 2 показники статистично значимо зменшились в середньому на 1,3-1,7 рази ($p < 0,05$), а рівень карбонільних груп збільшився не суттєво – на 16% ($p < 0,05$). Разом з тим ендогенні системи антиоксидантного захисту залишалися активованими. Рівень вільномолекулярних SH-груп був зменшеним майже у 2,4 рази ($p < 0,05$).

Активність каталази була більшою на 20%, активність GPx збільшилась у 3,4 рази, а GR і DT-діафрази – у 4,8 рази. Порівняно із терміном спостереження 1 місяць функціонування антиоксидантної системи змінилась наступним чином: рівень каталази зменшився у 1,7 разів, а наступних показників збільшився відповідно у 5, 9,7 і 19,2 рази ($p < 0,05$).

У групах тварин, яким проводили ТЖТ і ТКМ суттєвої різниці із групою порівняння на 3-й місяць спостереження не виявлено.

При комбінованому застосуванні ТЖТ з ТКМ рівень продуктів пероксидації залишався без суттєвих змін, лише концентрація ТБК-реагуючих продуктів була збільшеною у 1,4 рази ($p < 0,05$). Активність DT-діафрази і GR збільшилась у 1,3-1,8 разів, аналогічно з групами, де провели ізольовану ТЖК або ТКМ. Активність каталази і GPx зменшилась на 72,2% і 42,6% відповідно ($p < 0,05$).

Результати метаболічних змін тривало денервованих скелетних м'язів гомілки показали наступну динаміку: збільшення рівня продуктів пероксидації (МДА, ДК, карбонільних груп) у 2-2,2 рази ($p < 0,05$) проти зменшення вільних низькомолекулярних SH-груп (в середньому на 41,3%, $p < 0,05$) і активації ферментів антиоксидантного захисту (каталази GPx і у 3,7 разів, а GR у 8,1 раз, $p < 0,05$).

У групі тварин з ТЖТ статистично значимої різниці рівня МДА, ДК і карбонільних груп з групою порівняння не встановлено. При цьому активність каталази, GPx і GR зменшились майже у 3,5, 2 і 1,7 рази відповідно ($p < 0,05$).

У групі з ТКМ динаміка дисметаболічних розладів була аналогічною. Відмічено лише часткове зменшення рівня ТБК-реагуючих продуктів на 27,9% ($p < 0,05$), при цьому активність каталази і GPx збільшилась не суттєво – на 20,1% і 23,9% відповідно ($p < 0,05$).

У групі з комплексним застосуванням ТЖТ з ТКМ редукцію рівня продуктів пероксидації встановлено лише за показником ТБК-реагуючих

продуктів і ДК (на 41,9% і 36,4%, $p < 0,05$). Активність каталази була меншою у 3,1 рази ($p < 0,05$), а GPx компенсаторно збільшилась на 27,6% ($p < 0,05$).

Розділ 6 «Узагальнення та обговорення результатів» Дослідження метаболічних показників травматично ушкодженого нерва через 1 та 3 місяці після пластики та застосування ТЖТ і ТКМ в якості засобів стимулювання регенерації засвідчили часткову нормалізацію реакцій окисно-відновної рівноваги та компенсаторну активацію окремих ланок антиоксидантного захисту.

ТЖТ вплинула на активацію проростання (до 67,4%) нервових волокон крізь сегмент аутопластики травмованого нерва, при цьому відмічено ділянки з адипоцитами в епіневрії та збільшення щільності нейролемоцитів у ділянці шва.

ТКМ у гострому періоді активувала регенерацію осьових циліндрів і нейролемоцитів, що підтверджується проростанням поодиноких нервових волокон через дистальний шов через місяць після пластики, проте у віддалений період регенерація характеризувалась розвитком вторинної дегенерації, хоча загальна кількість волокон також була у межах 64,2%.

Гістоструктура нерва групи 2 - після аутопластики мала іншу архітектоніку порівняно з неушкодженим нервом. Через 1 міс після травми зона аутопластики характеризувалась відновленням анатомічної будови нерва, чітко рееструвалася проксимальний і дистальний шви. На гістологічному рівні фасцикули проксимального і дистального сегментів, зона аутопластики суттєво розрізнялися. Епіневрій сідничного нерва у тварин дослідної групи представлений товстою смугою щільної сполучної тканини, особливо в ділянці епіневрального шва.

Ділянка дистального шва характеризувалась посттравматичною активацією нейролемоцитів, інкапсуляцією шва, реорганізацією сполучної тканини нерва. Коли у терміні 1 міс ознак регенерації нервових волокон через дистальний шов не реестрували, то у терміні 3 міс встановлено проростання осьових циліндрів у дистальній відрізок нерва у кількості $4773,4 \pm 229,6$ нервових волокон/мм² ($P < 0,05$), тобто 49,7 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольним показником. При цьому відмічено ознаки вторинної дегенерації окремих нервових волокон.

У групі 2 з ТЖТ реестрували кращу посттравматичну регенерацію нерва. Дистальний сегмент нерва характеризувався збільшенням товщини епіневрії, міграцією активованих фібробластів, стазованими мікросудинами. Через 3 міс у дистальному відрізку нерва число регенерованих нервових волокон становило $6477,3 \pm 329,5$ мм², що на 35,6 % більше від групи 2 ($P < 0,05$).

У групі 3 ТКМ встановлено регенерацію нервових волокон у дистальний сегмент нерва через 1 місяць на рівні $851,9 \pm 54,3 \text{ мм}^2$ (8,8 % від контролю, $P < 0,05$). Через 3 міс число регенованих нервових волокон становило $6166,3 \pm 255,9 \text{ мм}^2$, що на 29,1 % більше від групи 2 ($P < 0,05$).

У групі 5 комплексного застосування ТЖТ і ТКМ, також встановлено проростання нервових волокон через дистальний шов. Рівень регенерації у термін 1 місяця становив $906,0 \pm 54,4 \text{ од/мм}^2$ (9,4% від контрольного показника, $p < 0,05$), а через 3 місяці – $6680,1 \pm 337,1 \text{ од/мм}^2$, тобто на 39,9% більше щодо показника у групі порівняння ($p < 0,05$).

Розвиток окиснювального стресу і наступне перекисне окиснення структурних компонентів клітин є одним із основних патогенетичних шляхів пошкодження тканин і органів при травматичному і ішемічному ураженні. Найбільш інформативними показниками рівня окисного стресу є утворення дієнових кон'югатів (ДК) із окиснених ліпідів, а також малонового діальдегіду (МДА). МДА виникає в тканинах при деградації поліненасичених жирів на тлі ушкодження активними формами кисню (АФК), служить маркером ПОЛ і окиснювального стресу та визначається не лише в тканинах, але і в плазмі крові, тобто є показником системних розладів.

Одночасно з цим відбувається окислювальна модифікація білків (ОМБ). Вільні радикали ушкоджують білки по всій довжині поліпептидного ланцюга, порушуючи первинну, вторинну і третинну структуру білків, що призводить до агрегації або фрагментації білкової молекули, тобто втрати її функціонального призначення.

Характерним маркером пошкодження білків за умов окиснювального стресу є утворення карбонільних груп при окисленні амінокислот: лізину, аргініну і проліну. Карбоксильні групи білків під дією АФК перетворюються в карбонільні групи, які, в свою чергу, можуть взаємодіяти з аміногрупами, що в остаточному підсумку призводять до утворення поперечних зшивок між білковими молекулами і порушення їх активності.

У проведених експериментальних дослідженнях було встановлено, що через 1 місяць після ушкодження сідничого нерва та його аутопластики відбувається розвиток ПОЛ та деградація білків у дистальному сегменті нерва, що є результатом травматичного, ішемічного та метаболічного ушкодження.

Синтез глутатіону *de novo* та його відновлення реалізується за АТФ-залежним шляхом, тобто порушення мітохондріальної функції корелює із зниженням відновленого глутатіону.

Рівень пулу вільних SH-вмісних молекул, основу якого складає глутатіон, в гострому періоді зростала лише у групах з ТЖТ, але у 3-місячний термін не відрізнялась від групи порівняння. Рівень продуктів пероксидації також зменшувався у гострому періоді і надалі зростав.

Активация глутатіонзалежної антиоксидантної ферментної системи нейтралізує реакції ПОЛ і підтримує у відновленому стані SH-групи протеїнів, забезпечуючи цим їх функціональну активність.

Різке збільшення активності цих ферментів у віддаленому періоді після аутопластики у групах з ТЖТ можна пояснити компенсаторними реакціями, які спрямовані на відновлення антиоксидантної системи. При цьому найбільше збільшення показників було встановлено при комбінованому застосуванні ТЖТ з ТКМ.

Активність каталази через 1 місяць після травми залишалась підвищеною, але через 3 місяці зменшувалась, а у групах з ТКМ навіть була нижче контрольних значень. На противагу цьому активність ДТ-діафрази спершу зростала, але у наступний період не відрізнялась від групи ТЖТ.

Результати гістологічних та біохімічних досліджень засвідчили важливі дані структурно-метаболічних змін у скелетних м'язах при травмі периферійного нерва.

Аналіз впливу ТЖТ і ТКМ засвідчив часткове запобігання прогресуючій атрофії денервованих м'язів на тлі стимуляції регенерації сідничого нерва.

ВИСНОВКИ

1. В експерименті доведено позитивний вплив концентрованого аспірату кісткового мозку на регенерацію нерва при його пластичі. Його застосування дозволило пришвидшити регенерацію нерва в період 1 місяць після пластики та значно підвищити кількість аксонів що проросли на рівні дистального шва.
2. Доведено, що жирова тканина активує регенерацію нерва через ділянку аутопластики, але механізми дії дещо відрізняються від дії аспірату кісткового мозку. Аспірат кісткового мозку, зумовлюючи неангіогенез в зоні застосування, в більшій мірі впливає на трофічні процеси. Так, активність ДТ-діафрази через 3 місяці в групі застосування кісткового мозку була в 3,3 рази вищою, ніж в контрольній групі (майже наближаючись до норми) в той час як при застосуванні жирової тканини її активність була лише в 1,2 рази вищою за контроль. Комбіноване застосування показало найкращі результати нормалізації біохімічних процесів та активації регенерації - через 1 та 3 місяці після пластики.
3. Через 3 місяці після пластики нерва в експерименті в групі де виконувалася лише пластика - спостерігалось проростання лише $49,7 \pm 2\%$ аксонів. В той час як в групі де застосовувалася жирова

тканина та аспірат кісткового мозку кількість аксонів, що проросла, була вищою – $67.5 \pm 3\%$ та $64.2 \pm 2,5\%$ відповідно. В групі де застосовувалась суміш жирової тканини та аспірату кісткового мозку через 3 місяці відмічалось проростання $69,6 \pm 3\%$ аксонів.

4. Формування фіброзної тканини зумовлює ішемію в зоні пластики та зумовлює вторинну дегенерацію, що було особливо помітно в контрольній групі. При застосуванні жирової тканини спостерігалось формування менш щільного рубця в епіневрії з включеннями жирової тканини. В групі, де застосовувалась суміш жирової тканини та кісткового мозку, морфологічно структура параневрального оточення найбільше відповідала здоровій тканині з відтворенням тканини ковзання.
5. В групі де виконувалась лише аутопластика - через 3 місяці спостерігалися значні денерваційні зміни – площа перерізу м'язових волокон була $39 \pm 3\%$, від неушкодженого нерва, в той час як в групі де застосовувалися жирова тканина та кістковий мозок- дорівнювала та навіть перевищувала рівень інтактної групи. Таким чином застосування клітинних технологій запобігає та значно зменшує ступінь денерваційних змін у м'язах та зберігає їх на період денервації до моменту реінервації.
6. Серією експериментальних досліджень доведено достовірний позитивний вплив жирової тканини як на регенерацію нерва через трансплатат так і на денерваційні процеси в м'язах, при цьому суміш жирової тканини та аспірату кісткового мозку показала вищу активність порівняно з ізольованим використанням, що дозволяє рекомендувати застосування суміші жирової тканини та аспірату кісткового мозку в клінічній практиці при реконструктивних операціях на нервах в тому числі при пластиці великих дефектів.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гайович І.В. Вплив суспензії жирової тканини на відновлення периферійного нерва після аутопластики дефекту / Страфун С.С. Гайович В.В. Борзих Н.О. Савосько С.І.// Вісник ортопедії, травматології та протезування. - № 4. - 2015. - С. 46-50 Особистий внесок автора полягає у зборі проведенні експериментального

- дослідження, аналізі результатів дослідження та інтерпретації отриманих даних.
2. Гайович І.В. Вплив трансплантації концентрованої суспензії червоного кісткового мозку на структурно-функціональне відновлення сідничного нерва після аутопластики / Страфун С.С. Гайович В.В. Борзих Н.О. Савосько С.І. // Літопис травматології та ортопедії. - №1-2. - 2016. – С. 96-102 Особистий внесок автора полягає у зборі проведенні експериментального дослідження, аналізі результатів дослідження та інтерпретації отриманих даних.
 3. Гайович І.В. Застосування жироплазмотромбоцитарної тканинної суміші у регенерації травматично ушкодженого периферійного нерва /Борзих Н.О.// Травма. - Т. 17. - № 2. -2016. - С. 73-77 Особистий внесок автора полягає у зборі проведенні експериментального дослідження, аналізі результатів дослідження та інтерпретації отриманих даних.
 4. Гайович І.В. Віддалені результати впливу клітинних технологій на регенерацію сідничного нерва при пластиці великого дефекту (експериментальне дослідження) / Савосько С.І.// Травма. - Т. 19. - №2. - 2018. - С. 51-61 Особистий внесок автора полягає у зборі проведенні експериментального дослідження, аналізі результатів дослідження та інтерпретації отриманих даних.
 5. Гайович І.В. Нейрометаболічні зміни периферійного нерва та м'язів при їх травматичному ушкодженні та вплив аутологічної жирової тканини на репаративно-відновні процеси при пластиці нерва. / Гайович І. В., Гайович В. В. Макаренко О. М., Савосько С. І.// Вісник морської медицини №1 (78) 2018 С. 74-84 Особистий внесок автора полягає у зборі проведенні експериментального дослідження, аналізі результатів дослідження та інтерпретації отриманих даних.

АНОТАЦІЯ

Гайович І. В. Аутопластика дефектів нервів з застосуванням жирової тканини та пунктату кісткового мозку (експериментальне дослідження). – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю

14.01.21 - травматологія та ортопедія, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» Київ – 2018

В дисертаційній роботі досліджено особливості перебігу процесу регенерації нервів після аутопластики під впливом аспірату кісткового мозку та жирової тканини. В експерименті на кролях виконувалася аутопластика дефекту сідничного нерва після чого зона пластики вкривалася жировою тканиною,

аспіратом кісткового мозку або їх сумішшю, в контрольній групі виконувалася лише аутопластика. Через 1 та 3 місяці після аутопластики для аналізу результатів проводилися гістологічні, морфометричні та біохімічні дослідження фрагментів нерва в зоні пластики, м'язів стегна та голілки. В результаті доведено позитивний вплив концентрованого аспірату кісткового мозку та жирової тканини на регенерацію нерва при його пластиці. Їх застосування дозволило майже на 40% підвищити кількість аксонів, що проросли на рівні дистального шва, при цьому доведено, що їх суміш комплексно впливає на процеси регенерації аксонів, покращуючи трофіку, знижуючи рівень ішемії в зоні трансплантації та формуючи тканину ковзання навколо зони пластики попереджаючи вторинну компресію. Застосування жирової тканини та кісткового мозку також впливало на м'язи, зменшуючи ступінь денерваційних змін та покращуючи відновлення.

Ключові слова: Регенерація, ушкодження нерва, аспірат кісткового мозку, жирова тканина

АННОТАЦІЯ

Гайович І. В. Аутопластика дефектов нервов с использованием жировой ткани и аспирата костного мозга (экспериментальное исследование).- Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 - травматология и ортопедия. - ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», Киев - 2018

В диссертационной работе представлены исследования особенности течения процесса регенерации нервных волокон после аутопластики под влиянием аспирата костного мозга и жировой ткани. В эксперименте на кроликах выполнялась аутопластика дефекта седалищного нерва, после чего зона пластики покрывалась жировой тканью, аспиратом костного мозга или их смесью, в контрольной группе выполнялась только аутопластика. Через 1 и 3 месяца после аутопластики для анализа результатов проводились гистологические, морфометрические и биохимические исследования фрагментов нерва в зоне пластики, мышц бедра и голени. В результате доказано положительное влияние концентрированного аспирата костного мозга и жировой ткани на регенерацию нерва при его пластике. Их применение позволило почти на 40% повысить количество аксонов, проросших на уровне дистального шва, при этом доказано, что их смесь комплексно влияет на процессы регенерации аксонов, улучшая трофику, снижая уровень ишемии в зоне трансплатации и формируя ткань скольжения вокруг зоны пластики

предупреждая вторичную компрессию. Применение жировой ткани и костного мозга также влияло на мышцы, уменьшая степень денервационных изменений и улучшая восстановление.

Ключевые слова: Регенерация, повреждения нерва, аспират костного мозга, жировая ткань

SUMMARY

Gayovich Igor Autoplasty of nerve defects with the use of adipose tissue and bone marrow aspirate (experimental study). - Manuscript

Thesis for Academic Degree of a candidate of medical sciences in specialty 14.01.21 - Traumatology and Orthopedics.- SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" Kiev – 2018

At the moment, the results of the plastics of the nerves, and especially with large defects, often remain unsatisfactory. This work studied the peculiarities of the process of regeneration after nerve autoplasty under the influenced aspirate bone marrow and adipose tissue. The experiment was conducted on rabbits (2 series for 25 rabbits). Rabbits were divided into 5 groups: in the first - control group- the nerve was not damaged, leaving it intact for comparison with normal indices, in the second group the incision of the nerve segment was carried out in the length of 1 cm, after which its autoplasty was performed. In the third group, the autoplastics was supplemented by coating the area with an autologous adipose tissue. In the fourth group of plastics area was covered by bone marrow aspirate. In 1 and 3 months after the autoplasty animals were withdrawn from the experiment. Histological, morphometric and biochemical studies of the nerve fragments in the plastic zone, as well as the study of the hip and leg muscles, were performed for analysis of the results. As a result, the positive effect of concentrated bone marrow aspirate and adipose tissue on the regeneration of the nerve under its plasticity has been proved. One month after plastics sprouting of axons through the distal suture was observed only in the group where the bone marrow aspirate was used and its mixture of fatty tissue. 3 months after nerve plastics in the second group sprouting was observed only of $49.7 \pm 2\%$ axons. While in the group where fat tissue and bone marrow aspirate were used, the number of axons that sprouted was higher - $67.5 \pm 3\%$ and $64.2 \pm 2.5\%$ respectively. In the group where a mixture of adipose tissue and bone marrow aspirate was applied, after 3 months germination of $69.6 \pm 3\%$ of axons was observed. With the use of adipose tissue, the formation of a less dense scar in epineurium was observed - a protective muffle from adipose tissue was formed

around the nerve, which prevented fibrosis of paraneural tissues and prevented from secondary compression. In the group where the mixture of adipose tissue and bone marrow was used morphologically, the structure of the paraneural environment most closely corresponded to a healthy tissue with reproduction of the tissue of slip. Biochemical indicators indicate a lower degree of ischemia and less pronounced trophic disturbance of the use of concentrated aspirate of bone marrow and adipose tissue. In particular, the activity of catalase in 1 month increased in all groups, but after 3 months in groups where bone marrow aspirate and fatty tissue were used, these rates were almost normal, while in the control group they were 20% higher than normal. Significant denervation changes occurred in the control group after 3 months - the area of the muscle fibers was $39 \pm 3\%$, from the intact group, while in the group where the fatty tissue and bone marrow were applied, it equaled and even exceeded the level of the intact group. Also, the greater number and area of nuclei in muscle cells in the groups where fatty tissue was used and the bone marrow aspirate was significantly higher than the control and intact groups, indicating active processes of regeneration in the muscles. Also, in groups where bone marrow aspirate and fatty tissue were used, less pronounced biochemical violations were observed. The level of lipid peroxidation products (diene conjugates, TBCs of reactive products and carbonyl groups) in the control group was almost 2 times higher than normal, while in experimental groups it was significantly closer to normal. Also, in experimental groups, the activation of enzyme systems - glutathione peroxidase, glutathione reductase, was observed, indicating a more pronounced compensatory response compared with the control group. Thus, the use of adipose tissue and bone marrow aspirates made it possible to improve the results of nerve plastics and reduce the degree of denervation of muscle disorders. In this study, the fatty tissue and bone marrow have different mechanisms of action, so the use of their mixture gives the best result compared to isolated use.

Key words: regeneration, nerve damage, bone marrow aspirate, fatty tissue

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ТЖТ	-	трансплатат жирової тканини
ТКМ	-	трансплатат кісткового мозку
ПОЛ	-	процесів перекисного окиснення ліпідів
ДК	-	дієнові кон'югати
ПНЖК	-	поліненасичені жирні кислоти
GR	-	глутатіонредуктаза
GPx	-	глутатіонпероксидаза
МДА	-	малоновий діальдегід