

## **ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА**

**доктора медичних наук, професора кафедри ортопедії і травматології**

**НУОЗ України імені П.Л. Шупика**

**МОВЧАНА Олександра Степановича**

**на дисертаційну роботу ПІДЛІСЕЦЬКОГО Андрія Теофіловича**

**«Вплив клітинних технологій на некрози м'язів при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)» представлену до захисту**

**на здобуття наукового ступеня доктора філософії в**

**галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»**

### **Актуальність теми дисертації.**

Актуальність дослідження можливих фізіологічних механізмів покращення регенераторних можливостей ішемізованих тканин, є дуже великою. В умовах сьогодення лікування посттравматичної ішемії кінцівок не втратило своєї актуальності у зв'язку із зростанням кількості високоенергетичних травм у структурі загального травматизму. Безперечним фактом є те, що вчасно виконана фасціотомія у разі компартмент синдрому є «золотим стандартом» у профілактиці та лікуванні ішемічної контрактури. Проте навіть вчасно виконана фасціотомія із розкриттям всіх уражених ішемією футлярів кінцівок і ревізією судинно-нервових пучків не завжди є запорукою попередження ішемічної загибелі м'язів та нервів. Вище було підкреслено, що у цьому аспекті найбільш перспективним та сучасним напрямком є клітинна терапія із застосуванням стовбурових клітин. Ще у 60-тих роках ХХ століття були перші спроби виділити стовбурові клітини з жирової тканини – вони були здійснені J. Rodbell та F. Jones. Однак стрімкий розвиток цього напрямку розпочався тільки у 1998 році, після публікації статті F.H. Gage в журналі «Nature», та одночасно публікації статті групою авторів з Вінконсійського університету, на чолі з Джеймсом Томпсоном – у журналі «Science» було опубліковано дві статті: «Ембріональні стовбурові клітини, що виділені з бластоцистів людини», «Новий потенціал людських ембріональних стовбурових клітин». Починаючи з цих публікацій, настав новий вирішальний

етап застосування клітинної терапії у лікуванні багатьох захворювань – зокрема таких як ішемічна хвороба серця, дитячий церебральний параліч, інсульт головного мозку тощо.

У сучасній ортопедичній практиці секреторні білки та/або фактори росту широко використовується з метою пришвидшення та/або покращення регенерації та репарації кісток і м'яких тканин. Поряд із цим, вивчення впливу застосування аутологічних продуктів на дегенеративно-дистрофічні, регенеративні та ішемічні процеси, у більшості своїй, мають суто експериментальний характер. Серед клітинних технологій, що широко вживаються у клінічній практиці, зокрема у пластичній, щелепно-лицьовій хірургії тощо, використовують суспензію мезенхімальних клітин червоного мозку і жирових клітин, а також тромбоцитарну плазму. Багато експериментальних робіт довели позитивний вплив клітинної терапії на сполучну та нервову тканину, а також м'язи серця, через вивільнення факторів росту (PDGF, IGF-1, TGF- $\beta$  тощо). Вивільнення цих факторів має як центральний вплив так і місцевий, причому не відбуваються імунні реакції, як на рівні місцевого так і на рівні гуморального імунітету. Щодо використання аутологічної тромбоцитарної маси та суспензії жирової тканини, багато авторів виказують думку щодо наявних низьких показників виживання зазначених клітинних препаратів у ішемічному середовищі.

Саме тому в дисертаційній роботі Підлісецького А. Т. за мету дослідження обрано дослідження впливу окремих клітинних препаратів на можливу редукцію некротизованих м'язів та периферичних нервів у якості клітинно-метаболических регенераторних факторів. Дисертаційна робота є актуальною, доцільною та має істотне наукове та практичне значення.

**Зв'язок теми дисертаційної роботи з науковими програмами, планами і темами.**

Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідної роботи ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»: «Дослідження механізмів впливу клітинних технологій на ішемічні та денерваційно-реінерваційні процеси

у м'язах (експериментально-клінічне дослідження)», строки виконання 2022-2024 р.р., № державної реєстрації 0122U000306.

### **Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.**

Науковий рівень дисертаційної роботи є достатньо високим. Достовірність положень та висновків роботи верифікована результатами експериментального, гістологічного дослідження, електронної мікроскопії та морфометричного дослідження. Комплексне експериментальне дослідження є багатоплановим та масштабним за об'ємом використаного експериментального матеріалу, всебічністю напрямів досліджень, які послідовно розкриті і є складовими загальної проблеми.

Робота ґрунтується на принципах доказовості, системного підходу з позицій сучасних знань та положень. Використані сучасні методи дослідження. Поставлені завдання вирішені в повному обсязі дозволили отримати нові дані та сформулювати наукові положення, повноту і змістовність.

### **Повнота викладання наукових положень, висновків, результатів в опублікованих працях.**

За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них індексуються у реферативній базі Scopus – 2 статті, Web of Science – 1 стаття, у виданнях, включених до переліку наукових фахових видань ДАК МОН України – 3 статті, 4 тези в матеріалах міжнародних конгресів та конференцій.

### **Наукова новизна результатів представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених досліджень.**

Здобувачем отримано нові наукові данні щодо впливу клітинних технологій на процеси регенерації ішемізованих ділянок скелетних м'язів в умовах посттравматичної ішемії кінцівок. Вперше в умовах експерименту проведено порівняльний аналіз впливу концентрату тромбоцитарної плазми,

аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини на перебіг атрофічних процесів м'язової тканини в умовах посттравматичної ішемії кінцівок. Автором отримано результати та оцінено якісні та кількісні характеристики структурних змін м'язової тканини у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури під впливом клітинної терапії морфологічними та ультразвуковим методами досліджень. Автором вперше досліджено зміни периферійних нервів кінцівки за умов посттравматичної ішемії та введення концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Встановлено різницю щодо стійкості м'язової тканини і нервових стовбурів до посттравматичної ішемії, виявлено рівень збереження головних морфологічних структур нерва та топографічні особливості атрофії м'язів.

У роботі містяться якісні та лаконічні рисунки та таблиці, наведені дані переконливо свідчать про новизну проведеного наукового дослідження.

### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертаційна робота є самостійно виконаним автором дослідженням. Вибір напрямку дослідження здійснювали безпосередньо під керівництвом та за сприянням наукового керівника. Автором було самостійно проведено інформаційно-патентний пошук, аналіз та узагальнення літературних даних. Сумісно з науковим керівником розроблено тему, мету, завдання дослідження, погоджено його дизайн. Здобувачкою самостійно сформульовані, проаналізовані, статистично опрацьовані та інтерпретовані результати експериментального дослідження, написані усі розділи дисертаційної роботи, сформовано висновки. Автором самостійно написані та підготовлені до друку статті й тези у матеріалах конференцій, виконано доповіді про результати експериментального дослідження. Матеріали цієї роботи не були використані в інших дисертаціях.

Основні положення дисертаційної роботи оприлюднено в доповідях на Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративні технології в травматології та ортопедії», м. Київ, Україна, (28-29 жовтня 2021

року), П'ятій Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м. Приморськ, (2-4 вересня, 2021 року), Міжнародній науково-практичній конференції 41ST SICOT ORTHOPAEDIC WORLD CONGRESS (м. Будапешт, Угорщина, 2021 рік), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «The 23rd EFORT Annual Congress», м. Лісабон, Португалія, (22-24 червня 2022 року), 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», м. Київ, (8-9 червня 2023 року).

### **Практичне значення отриманих результатів.**

За результатами дисертаційної роботи, розроблено і впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини в некротизовані ділянки скелетних м'язів, а також у разі відновлення (невроліз, шов, пластика) нервів у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури на 5,15 та 30 добу. Було оцінено кількісні та якісні характеристики м'язової тканини у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури під впливом концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату клітин кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини.

### **Оцінка структури змісту і форми дисертаційної роботи.**

Дисертаційна робота є типовою, викладена українською мовою на 178 сторінках машинописного тексту і складається із 2-х анотацій: українською та англійською мовами, вступу, 7 розділів (огляд літератури, матеріали та методи дослідження, структурні зміни у некротизованих м'язах при післятравматичній ішемії кінцівки, пошкодження сідничного нерва після ішемічного пошкодження кінцівки, особливості перебігу реактивно-відновлювального періоду ішемічної контрактури та можливість впливу на некротизовані м'язи,

метаболічні зміни у некротизованих нервах та м'язах при післятравматичній ішемії кінцівки та вплив клітинної терапії на відновні процеси, аналіз одержаних результатів), висновків, списку використаної літератури, ілюстрована 68 рисунками та 5 таблицями. Список літератури містить 225 джерел інформації (30 кирилицею та 195 латиницею).

**У вступі** відповідно вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт описується актуальність теми дисертації, її наукова новизна, практичне значення, чітко сформульована та описана мета дослідження. Задачі дослідження чітко відповідають поставленій меті. Викладена інформація, яка цілком відповідає назві й сутності дисертації.

**У першому розділі (огляді літератури)** представлено аналіз сучасних літературних джерел стосовно обраної теми дослідження, розкрито наукові дані, щодо особливостей етіології, патогенезу та перебігу ішемічної контрактури кінцівок, історичний аспект розвитку даної проблеми. В даному розділі. Огляд літератури написаний професійною, грамотною мовою, демонструє широку обізнаність автора щодо численних наукових аспектів проблеми патогенезу, діагностики та лікування

**Другий розділ (матеріали та методи)** У розділі висвітлено основні етапи роботи, дані про матеріали та методи дослідження, його дизайн. Методи і методики, які застосовувались є сучасними, відповідають світовому рівню, меті та завданню.

**Третій розділ (структурні зміни у некротизованих м'язах при післятравматичній ішемії кінцівки)** присвячено науковому підґрунтю до експериментального вивчення впливу тканинних технологій на розвиток некрозів у м'язах кінцівки при післятравматичній ішемії, ультразвукографічному, макроскопічному дослідженні скелетних м'язів в умовах ішемії, а також результатам та їхньому детальному опису.

**Четвертий розділ роботи (пошкодження сідничного нерва після ішемічного пошкодження кінцівки)** присвячений дослідженню теорії, що нервово-судинний пучок може бути пошкоджений за умов ішемії кінцівки. В якості контролю для аналізу морфологічних змін сідничного нерва було

вибрано зразки інтактного сідничного нерва неоперованих тварин. У досліджених зразках сідничного нерва груп тварин, яким моделювали травматичну ішемію, на поздовжніх зрізах нервів виявлено деякі структурні зміни нервових волокон у фасцикулах сідничного нерва. Цілісність нерва була непорушеною, фасцикулярна будова була збереженою. Оболонки нерва без значного пошкодження, лише у епіневрії виявлено збільшену щільність окремих фіброblastів, що свідчить про клітинні реакції у стромальних елементах нерва, проліферації клітин епіневрію. У фасцикулах нерва виявлено нервові волокна, їх щільність не демонструвала суттєвої різниці між термінами експерименту (5, 15 і 30 доба) і щодо контролю, але були виявлені деформовані волокна з різною товщиною мієлінової оболонки. На 30 добу експерименту у сідничному нерві виявлено окремі «вільні» нейролемоцити вздовж нервових волокон. Це можна описати як морфологічний прояв реактивних реакцій нейролемоцитів у сідничному нерві. Як відомо, такі вільні нейролемоцити з «активованим» фенотипом з'являються при травматичному пошкодженні нерва, при розвитку первинної та вторинної дегенерації у периферійному нерві.

**У п'ятому розділі «Особливості перебігу реактивно-відновлювального періоду ішемічної контрактури та можливість впливу на некротизовані м'язи»** було проведено оцінку результатів досліджень впливу концентрату тромбоцитарної плазми, концентрату клітин кісткового мозку, аспірату клітин жирової тканини на некротичні зміни скелетних м'язів. Також було проведено гістологічну оцінку скелетних м'язів гомілки на тлі ішемічного пошкодження кінцівки та застосування клітинної терапії.

**У шостому розділі «Метаболічні зміни у некротизованих нервах та м'язах при післятравматичній ішемії кінцівки, вплив клітинної терапії на відновні процеси»** представлено результати біохімічного дослідження крові при ішемічному ураженні скелетних м'язів. Результати досліджень біохімічного аналізу крові показали зростання у м'язовій тканині активності антиоксидантних ензимів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ) на 15 добу експерименту і навпаки, з різким падінням рівня активності глутатіонпероксидази (ГП) у всі терміни експерименту. Підвищена активність

СОД і КАТ оцінено як наслідок реперфузійного ушкодження.

**У цьому розділі «Аналіз одержаних результатів»** викладено аналіз результатів всіх видів проведених досліджень з акцентом на біохімічний компонент.

**Висновки роботи.** Робота автора дає повну відповідь на поставлені завдання, має теоретичне та практичне значення і повністю виходить із проведених досліджень.

Таким чином, дисертаційна робота Підлісецького А.Т. є завершеним науковим дослідженням, а отримані результати слід вважати такими, що не підлягають сумніву.

**Дані про відсутність текстових запозичень та порушення академічної доброчесності.**

При перевірці дисертації не виявлено академічного плагіату, не встановлено фабрикації та фальсифікації даних чи будь-яких інших проявів академічної доброчесності.

**Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення.**

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.

В ході рецензування виникли наступні запитання:

1. Вкажіть різницю між інтактною та контрольною групою в ході Вашого експерименту?

2. Чим відрізняється вплив клітинних технологій при застосуванні у відновленні нервів (невроліз/шов/пластика) в реактивно-відновлювальний період ішемічною контрактурою, спричиненою ішемічним переродженням м'язів?

3. Відповідно до Вашої роботи, з представлених клітинних технологій вкажіть, яка з них найкраще впливає на попередження розвитку некрозу ішемізованих м'язів?

## **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Підлісецького Андрія Теофіловича «Вплив клітинних технологій на некрози м'язів при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)» подана на здобуття наукового ступеня доктор філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», виконана в ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМНУ» під керівництвом доктора медичних наук Долгополова Олексія Вікторовича є завершеною, самостійною роботою, яка містить нове експериментальне рішення актуальної проблеми – діагностики та лікування ішемічних пошкоджень скелетних м'язів кінцівок. Дисертаційна робота має беззаперечну наукову новизну, теоретичне та практичне значення, широко висвітлена в публікаціях та попередньо апробована на конференціях із дотриманням академічної доброчесності та повною мірою відповідає вимогам п. 6 «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 та вимогам оформлення дисертацій, затвердженим наказом №40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року, а її автор Підлісецький Андрій Теофілович, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

**Офіційний опонент:**

**професор кафедри ортопедії і травматології  
НУОЗ України імені П.Л. Шупика,  
доктора медичних наук,  
Заслужений лікар України  
МОВЧАН**

**Олександр**