

## Висновок

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Підлісецького Андрія Теофіловича на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)».

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, завідувач відділу важкої поліструктурної травми ДУ «Інститут травматології та ортопедії Національної академії медичних наук України» Долгополов Олексій Вікторович.

### Рецензенти:

1. Заступник директора ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» з наукової роботи, завідувач відділу мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки, доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМНУ Страфун Сергій Семенович.

2. Заступник директора з організаційно-адміністративної роботи, завідувач відділу діагностики ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», доктор медичних наук Гайко Оксана Георгіївна.

### Ким і коли затверджена тема дисертації.

Тема дисертаційної роботи «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)» затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «ІТО НАМН України» (протокол засідання Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» № 21 від 24.12.2019 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 Підлісецького Андрія Теофіловича «Вплив

клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (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 та клінічних досліджень. 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 №5 від 12.12.2019 року), (протокол засідання №5 від 07.12.2023 року).

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

Компартмент-синдром вважається одним з найважчих ускладнень, що виникають після травм кінцівок, описується як патологічний процес, при якому підфасціальний (тканинний) тиск у замкнутому кістково-фасціальному просторі знижує перфузію м'язів, викликаючи їх ішемію. При відсутності адекватного лікування при компартмент-синдромі відбуваються незворотні зміни в м'язах і нервах кінцівок, що призводить до тяжких наслідків, починаючи від формування ішемічної контрактури закінчуючи смертю потерпілого. На сьогоднішній день найбільш ефективною профілактикою розвитку ішемічної контрактури вважається своєчасна фасціотомія кістково-фасціальних футлярів ушкодженої кінцівки. Невирішеною проблемою є лікування хворих у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури. Аналіз літературних даних останніх 10 років показав, що у світі переважає пасивна лікувальна тактика або тактика спостереження протягом 9–18 місяців реактивно-відновлювального періоду ішемічної контрактури. Активні хірургічні заходи при компресійно-ішемічній нейропатії периферичних нервів включають їх відновлення при пошкодженні та невротиз, при здавленні рубцями, що утворюються на місці некрозу. Проте, незважаючи на значні досягнення оперативної хірургії нервів і судин кінцівок, заснованої



на застосуванні різних мікрохірургічних технік, результати операцій на нервах в умовах ішемії у більшості пацієнтів залишаються незадовільними. Етіопатогенетичний механізм редукції некрозів у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури досить повно розкритий у науковій літературі, проте механізми можливої регенерації м'язової тканини не вивчені. Аналіз літературних даних виявив збільшення зацікавленості фахівців різних медичних галузей, щодо вивчення можливих фізіологічних механізмів покращення регенераторних можливостей ішемізованих тканин. Найбільш перспективним та сучасним напрямком у цьому аспекті є клітинна терапія із застосуванням стовбурових клітин, які можуть сприяти редукції некрозів у поперечно-посмугованих м'язах.

Таким чином, вищевикладені положення зумовлюють наукову і практичну актуальність проблеми лікування пацієнтів з ішемічною контрактурою, що вимагає пошуку нових перспективних напрямків у вирішенні теоретичних (зокрема експериментальних) і практичних питань, пов'язаних з цією патологією.

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

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

У дисертації покращено результати наведено нове вирішення актуального наукового завдання ортопедії і травматології, а саме вивчено вплив тромбоцитарної плазми, клітинних аспіратів кісткового мозку та жирової тканини на структурні та біохімічні зміни у скелетних м'язах кінцівки дослідних тварин на тлі моделювання турнікетної ішемії кінцівки.



### **3. Наукові положення, розроблені особисто дисертантом та їх новизна.**

Наукова робота є особистою працею автора. Автором дисертаційної роботи особисто проведено аналіз сучасного стану питання лікування посттравматичної ішемії кінцівок на різних стадіях формування ішемічної контрактури. Дисертант брав участь у проведенні експерименту, в якому було досліджено вплив різних клітинних технологій на розвиток некрозу та процеси регенерації великогомілкового нерву, який проходить крізь ішемізований задній глибокий футляр гомілки, проведено їх порівняльну оцінку, а також вивчено вплив на денерваційні процеси у м'язах на ранніх стадіях регенерації та у віддаленому періоді. Отримані дані, дисертант підтвердив за допомогою гістологічних та біохімічних досліджень. З урахуванням отриманих результатів розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини в некротизовані ділянки скелетних м'язів. Здобувачем самостійно написано всі розділи дисертації, зроблена систематизація, інтерпретація, аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки та практичні рекомендації. Дисертантом підготовлені виступи на наукових форумах, опубліковані наукові роботи, самостійно оформлена дисертаційна робота

У наукових роботах, які виконані в співавторстві, здобувач реалізував свої наукові ідеї. Співавтори наукових робіт надавали технічну допомогу, допомогу в проведенні експериментів на тваринах.

### **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 спостережень (у експериментальному дослідженні взяли участь 65 кролів, порода Шиншила, вагою 4,2-4,5 кг., яким були поведені експерименти з моделювання посттравматичної ішемії кінцівки та вивчення впливу клітинних



технологій) з використанням сучасних методів діагностики, що адекватні поставленим завданням та статистичному аналізу.

В експерименті доведено, що шестигодинна турнікетна ішемія призводить до розвитку компартмент синдрому, який переходить у ішемічну контрактуру на 5 добу після епізоду ішемії;

При застосуванні гістологічних методик дослідження та за допомогою сонографії визначено, що тотальний та субтотальний некроз м'язів формується на 5, 15 добу після компартмент синдрому переважно у м'язі глибокого футляра гомілки експериментальних тварин;

Доведено, що турнікетна ішемія кінцівки викликає різко виражені структурні зміни у скелетних м'язах, які полягають у прогресуючій гіпотрофії м'язових волокон, появі новоутвореної сполучної тканини та заміщенням м'язової тканини на сполучну. Ступінь пошкодження (в першу чергу некроз м'язових волокон та розвиток фіброзних змін) та гіпотрофії є неоднорідним і більшим у субфасціальних м'язах, тоді як глибокі м'язи характеризуються меншим рівнем пошкодження м'язових волокон і відтермінованою атрофією;

Кореляційний аналіз підтверджує достовірність ( $P \leq 0,05$  до контролю) отриманих змін кількісних сонографічних показників в умовах впливу тяжкості ішемії на структурний стан ішемізованих м'язів, а також демонструє достовірний зв'язок між показниками некрозу м'язів та вертикальної  $\delta$ -ентропії. Результати морфометричних досліджень м'язової тканини корелюють з результатами ультразвукових досліджень у ранніх стадіях формування некрозу (5 доба після турнікетної ішемії) ( $r=1,00$ ;  $p<0,001$ ). Тому використання сонографії з програмним забезпеченням що виходить з вертикальної  $\delta$ -ентропії доцільно застосовувати для діагностики локусів формування нерозів на ранніх стадіях в які в подальшому вводили вводили концентрат тромбоцитарної плазми з терапевтичною метою;

У групі тварин з ішемією, яким вводили концентрат клітин червоного кісткового мозку, виявлено кращий ступінь збереження м'язових волокон у глибоких м'язах і швидшу елімінацію продуктів некрозу у субфасціальних



міонах. За даними морфометрії, на 5-ту добу діаметр м'язових волокон не відрізнявся від контрольних значень і був більшим від значень у групі з ішемією ( $p < 0,05$ ). Така різниця пояснюється тим, що частина пошкоджених волокон мала більший діаметр через набряк. На 15-ту добу діаметр м'язових волокон був таким, як у групі з ішемією. На 30-ту добу кількісні значення не змінилися, що оцінено як прояв затримки гіпотрофії м'язових волокон. На морфологічному рівні виявлено кращу збереженість м'язових волокон, наявність поперечної посмугованості і помірне збільшення кількості міоядер.

У групі тварин з ішемією, яким вводили клітини жирової тканини (стромально-васкулярну фракцію) результати морфометричної оцінки кількісно підтвердили прогресуючу гіпотрофію м'язових волокон. Достовірно менший діаметр (в середньому на 15,3%,  $p < 0,05$ ) щодо групи з ішемією встановлено на 15-ту добу після введення аспірату жирової тканини, а на 30-ту добу різниці кількісних значень не виявлено. Ці дані вказують на те, що після введення аспірату жирової тканини у ішемізований м'яз гіпотрофія розвивалася більш стрімко, тобто мала негативний наслідок.

Аналіз біохімічних результатів після введення клітинних технологій показав відмінності метаболічних ефектів різних клітинних суспензій. Після ішемічного пошкодження відбувалась активація ферментів антиоксидантної системи на 15-ту добу, а дія тромбоцитарної плазми прискорила активацію цієї ферментативної системи. Дія клітин кісткового мозку характеризувалась більш пролонгованою відповіддю антиоксидантної системи, а реакцію СОД на 5-ту добу після введення стромально-васкулярної фракції жирової тканини можна оцінювати як реакцію на її введення у м'язову тканину. Разом з тим, на 15-ту і 30-ту добу встановлено достовірне збільшення активності ГП у всіх трьох групах порівняння, що вказує на активацію і відновлення роботи антиоксидантної ланки захисту на тлі ішемічного ушкодження.

Встановлено достовірне зменшення нітриту-аніону ( $p < 0,05$ ) у всі три терміни експерименту після введення тромбоцитарної плазми і на 15-ту і 30-ту добу після введення концентрату клітин кісткового мозку, що можна



оцінити як прояв його утилізації антиоксидантними ферментами. На 15 добу експерименту додатково виявлено збільшення ТБК-активних продуктів у групі з клітинами кісткового мозку, що оцінено як відтерміновану реакцію м'язової тканини на введення цих клітин, на появу продуктів розпаду. На 30 добу експерименту метаболічна відповідь м'язів на введення аспірату кісткового мозку вже завершилась, хоча активності каталази і рівень нітрит-аніону залишались високими. Після введення тромбоцитарної плазми додатково до зазначених показників залишалась підвищеною активність СОД. На відміну від цього, дія стромально-васкулярної фракції жирової тканини характеризувалась постійно високим вмістом у м'язій тканині нітрит-аніону, і профіль біохімічних процесів у більшій мірі був подібним до групи з ішемією. Падіння активності каталази і гіперпродукція нітрит-аніону є біохімічним проявом некрозу.

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

## **5. Наукове та практичне значення роботи.**

### **Наукова новизна:**

Вперше отримано наукові дані щодо впливу різних клітинних технологій на процеси регенерації ішемізованих скелетних м'язів внаслідок турнікетної ішемії кінцівок.

Поглиблено знання щодо якісних та кількісних характеристики структурних змін м'язової тканини у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури під впливом клітинної терапії морфологічними та ультразвуковим методами досліджень.

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.

Виявлено деякі ефекти (формування нових міотубу, появу додаткових міо ядер) впливу аспірату кісткового мозку на перебіг процесу атрофії м'язової тканини і активації регенерації м'язових волокон у реактивно відновлювальному періоді ішемічної контрактури.

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.

На основі сонографії (даних ентропії) встановлено ефективність ультразвукового дослідження у оцінці стану м'язової тканини, встановлено переваги методу на 5 добу після пошкодження кінцівки.

Вперше на основі експериментальних та біохімічних досліджень було досліджено стан пероксидації та ферментів антиоксидантної системи пошкоджених скелетних м'язів за умов введення у м'язову тканину концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Виявлено гіперпродукцією нітрит-аніону NO<sub>2</sub>- у термін 5, 15 і 30 діб після турнікетної ішемії та позитивний ефект його зменшення після введення тромбоцитарної плазми і аспірату кісткового мозку, за рахунок відновлення глутатіонпероксидази як ферментативної ланки антиоксидантної системи, що вказує на відновні процеси у м'язовій тканині.

**Практичне значення отриманих результатів та їх впровадження в практику.**

На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини в ішемізовані ділянки скелетних м'язів в реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури.



## 6. Використання результатів роботи.

В практиці відділів «Мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки» та «Важкої поліструктурної травми» ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» застосовано використання суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини при реконструктивних втручаннях на периферійних нервах при компресійно-ішемічній нейропатії та при відновленні периферичних нервів у реактивно-відновному період ішемічної контрактури

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

Матеріали дисертаційної роботи Підлісецького А.Т. повністю висвітлені в опублікованих наукових працях. Результати дисертаційного дослідження відображають 6 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 з'їздів та конференцій.

### Список публікацій за темою дисертації:

1. Pidlisetskyu, A., Savosko, S., Dolhopolov, O., Makarenko, O. (2021). Peripheral nerve lesions after a mechanically induced limb ischemia. *Georgian Medical News*, Jan(310), 165-169. <https://www.geomednews.com/v310-january-2021.html>.
2. Pidlisetskyu, A., Savosko, S., Gayovich, I., Dolhopolov, O., Biliavskyi, V. (2023). The ultrasonography examination of skeletal muscles in traumatic ischemia (experimental study). *Wiadomosci Lekarskie Medical Advances*, 76(1), 175-181. doi: 10.36740/WLek202301124.
3. Підлісецький, А.Т., Косякова, Г.В., Горідько, Т.М., Бердишев, А.Г., Мегедь, О.Ф., Савосько, С.І., Долгополов, О.В. (2021). Введення збагаченої тромбоцитами плазми або концентрованого клітинного аспірату кісткового мозку після механічноіндукованої ішемії покращує біохімічні показники в скелетних

м'язах. Український Біохімічний Журнал, 93(3), 30-38. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj93.03.030>.

4. Pidlisetskyu, A. T. (2021). Damages of neuromuscular system after mechanical-induced limb ischemia (Experimental Study). Вісник Ортопедії, Травматології та Протезування, 2, 58-62.

5. Страфун, С.С., Підлісецький, А.Т., Савосько, С.І., Гайович, І.В., Долгополов, О.В. (2021). Ультрасонографічне дослідження скелетних м'язів в умовах травматичної ішемії (експериментальне дослідження). Журнал Національної Академії Медичних Наук України, 27(2), 110-111. <http://journal.amnu.gov.ua/archive-ua/2021-27-2>

6. Pidlisetsky, A., Dolhopolov, O., Savosko, S., & Makarenko, O. (2023). Дослідження структурних змін у субфасціальній ділянці скелетних м'язів гомілки після травматичної ішемії та впливу регенеративних технологій на відновлювальні процеси (експериментальне дослідження). Ортопедія, травматологія та протезування, (4), 63–69. <https://doi.org/10.15674/0030-59872021463-69> <http://otp-journal.com.ua/article/view/251432>

## 8. Апробація матеріалів дослідження.

Основні положення та результати роботи були обговорені на:

1. Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративні технології в травматології та ортопедії», м. Київ, Україна, 28-29 жовтня 2021 року, усна доповідь.
2. П'ята Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м. Приморськ, 2-4 вересня, 2021 року, усна доповідь.
3. Міжнародна науково-практична конференція 41ST SICOT ORTHOPAEDIC WORLD CONGRESS (м. Будапешт, Угорщина, 2021 рік),



4. Науково-практична конференція з міжнародною участю «The 23rd EFORT Annual Congress», м. Лісабон, Португалія, 22-24 червня 2022 року, постерна доповідь.
5. 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, усна доповідь.

#### **Оцінка мови та стилю дисертації.**

Дисертаційна робота Підлісецького Андрія Теофіловича «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (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 Підлісецького А.Т. на здобуття ступеня доктора філософії «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (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 очної форми навчання Підлісецького А.Т. «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (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 вивчення впливу тромбоцитарної плазми, клітинних аспіратів кісткового мозку та жирової тканини на структурні та біохімічні зміни у скелетних м'язах кінцівки дослідних тварин на тлі моделювання турнікетної ішемії кінцівки, що має істотне значення для галузі знань Охорона здоров'я, спеціальності Медицина.

Дисертація Підлісецького Андрія Теофіловича 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.



*Ученый секретар  
ДУ «Национальной академии наук Украины»  
на отделе ИСАИ Украины  
Закорюк В.В.*

