

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувача ортопедо-травматологічним відділенням Науково-дослідного інституту реабілітації осіб з інвалідністю (ннлк) Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

Безсмертного Юрія Олексійовича

на дисертаційну роботу аспіранта заочної форми навчання
ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»

Підлісецького Андрія Теофіловича

на тему: **«Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)»**,
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність обраної теми дисертаційного дослідження.

Ішемічна контрактура – є однією з найважчих ускладнень, що виникає після травм кінцівок, характеризується швидким розвитком функціональних порушень, різким зниженням якості життя хворих, а у важких випадках призводить до інвалідності та соціальної дезадаптації хворого. З початком військових дій на території України та значною кількістю хворих з пораненнями кінцівок питання своєчасної діагностики та комплексного лікування посттравматичної ішемії набули нової актуальності. Відомо, що ішемічна контрактура виникає внаслідок перенесеного місцевого гіпертензивного ішемічного синдрому, за якого підвищений тканинний тиск зменшує мікроциркуляцію тканин у межах закритого кістково-фасціального футляра. На фоні порушення мікроциркуляції відбувається пригнічення оксигенації та метаболізму тканин пошкодженої кінцівки, що призводить до глибокої ішемії, розвитку некрозів і поступової загибелі тканин. У 70 % хворих травматична ішемія кінцівки асоціюється з ушкодженням периферичних нервів у вигляді компресійно-ішемічних нейропатій у межах ушкоджених ішемією кістково-фасціальних футлярів.

Сучасні підходи з лікування післятравматичної ішемії кінцівки передбачають застосування консервативної терапії, яка включає судинну, антиоксидантну та вітамінотерапію, методи фізичного впливу (фізична терапія, масаж), функціональне ортезування. У більшості хворих терапія поєднується з активними хірургічними інтервенціями, які направлені на зменшення тканинного тиску, зони ішемії та некрозу, профілактику формування контрактур кисті чи стопи. Поряд з цим, незважаючи на значні досягнення оперативної хірургії в лікуванні післятравматичної ішемії кінцівки, що ґрунтуються на застосуванні різноманітних мікрохірургічних технік, результати цих операцій у більшості хворих залишаються незадовільними.

На сучасному етапі активно вивчається можливість використання клітинних та тканинних технологій при лікуванні травматичних та ішемічних ушкодженнях тканин, зокрема аутологічних мезенхімальних клітин. Мезенхімальні клітини здатні диференціюватися у адипоцити, фібробласти, а також паракринно впливати на ангиогенез та регенерацію тканин. Починаючи з 2012 року клітинна терапія активно застосовується при лікуванні ішемічної хвороби серця та ішемічного інсульту головного мозку проте дані з її застосування при ішемічній контрактурі кінцівок відсутні.

Представлена дисертаційна робота Підлісецького Андрія Теофіловича на тему: «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язи при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)», є актуальною та своєчасною, оскільки спрямована на вирішення важливого завдання сучасної травматології та ортопедії – вивченню 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.

Вищевикладене, обумовлює необхідність та доцільність даного дослідження.

Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

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.

Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні, підґрунтям якого є якісний науково-патентний пошук, який базується на аналізі 225 джерел літератури за напрямком дослідження, 30 з яких написані кирилицею, 195 – латиницею, чітке визначення мети дослідження та постановка завдань для її досягнення, комплексним використанням теоретичних методів дослідження, експериментального моделювання, морфологічного та біохімічного досліджень, ретельно обраних методів статистичного аналізу результатів досліджень. Все це дозволило отримати нові знання стосовно впливу клітинних аспіратів на структурні та біохімічні зміни у скелетних м'язах кінцівки дослідних тварин на тлі моделювання турнікетної ішемії кінцівки.

За матеріалами дисертації опубліковано 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. Всі публікації є сучасними науковими працями, які підготовлені на високому науковому рівні відповідно до сучасних вимог.

Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертантом опановано сучасні методи дослідження, а саме: експериментальний (моделювання посттравматичної ішемії кінцівки), гістологічний, морфометричний (кількісна оцінка фіброзної тканини (регіони колагеногенезу) у скелетних м'язах гомілки, морфометрія сідничного нерва), біохімічний (дослідження продуктів перекисного окислення ліпідів, визначення рівня NO^2), сонографічне дослідження, методи математичної статистики, використання яких у сукупності забезпечило достовірні результати.

Для реалізації поставлених завдань роботи було проведено експериментальне дослідження на кролях. Автором встановлено, що шестигодинна турнікетна ішемія призводить до розвитку компартмент синдрому, який переходить у ішемічну контрактуру на 5 добу після епізоду ішемії. Відмічено, що тотальний та субтотальний некроз м'язів формується на 5, 15 добу після компартмент синдрому переважно у м'язах глибокого футляра гомілки експериментальних тварин. 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 заміщенні м'язової тканини на сполучну. За результатами проведених морфологічних та біохімічних досліджень автор встановив потенційну дію клітинних технологій. У групі тварин з ішемією, яким вводили клітини жирової тканини (стромально-васкулярну фракцію) результати морфометричної оцінки кількісно підтвердили прогресуючу гіпотрофію м'язових волокон. Аналіз біохімічних результатів після введення клітинних технологій показав відмінності метаболічних ефектів різних клітинних суспензій.

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

Теоретичне значення результатів дослідження.

Автором вперше отримано нові наукові дані щодо впливу різних клітинних технологій на процеси редукції некрозів скелетних м'язів в умовах

посттравматичної ішемії кінцівок. В умовах експерименту проведено порівняльний аналіз впливу концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини на перебіг процесів розвитку атрофії м'язової тканини в умовах посттравматичної ішемії кінцівок. Дисертантом 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. Виявлено ефекти впливу аспірату кісткового мозку на перебіг процесу атрофії м'язової тканини і активації регенерації м'язових волокон у різні періоди ішемічної контрактури. 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 експериментальних та біохімічних досліджень було вивчено 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. Дисертантом 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. За допомогою численних методів дослідження було доведено, що скелетні м'язи мають низьку стійкість до посттравматичної ішемії і гіпотрофія асоціюється зі стійкою гіперпродукцією продуктів пероксидації у 30-денний термін після реперфузії, що може бути корисним при плануванні лікувальних заходів щодо даних пацієнтів.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі отриманих даних було розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини. Дана суміш вводилась в некротизовані та ішемізовані ділянки скелетних м'язів, а також у разі відновлення (невроліз, шов, пластика) нервів у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури.

Впровадження результатів у практику.

Використання суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини

впроваджено в практиці відділів «Мікрохірургії та реконструктивної хірургії верхньої кінцівки» та «Важкої поліструктурної травми» ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» при реконструктивних втручаннях на периферійних нервах при компресійно-ішемічній нейропатії та при відновленні периферичних нервів у реактивно-відновному період ішемічної контрактури.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

Зміст і структура дисертаційної роботи Підлісецького А.Т. відповідають вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт. Робота написана українською мовою за традиційною схемою, складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Всі розділи дисертації викладені послідовно, ґрунтовно, у науковому стилі. Загальний обсяг роботи складає 181 сторінка машинописного тексту. Робота ілюстрована 68 рисунками і 5 таблицями. Список літератури містить 225 джерел інформації (30 кирилицею та 195 латиницею).

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

У **першому розділі (огляд літератури)** обґрунтовується актуальність теми дисертації, наукова новизна, практичне значення, історичний аспект розвитку проблеми. Чітко сформульована мета дослідження. Задачі дослідження відповідають поставленій меті. При написанні розділу дисертант опрацював значну кількість сучасних вітчизняних та зарубіжних публікацій, що свідчить про професійну компетенцію здобувача.

У **розділі 2 «Матеріали та методи»** представлено дані щодо дизайну дослідження, описано експериментальну модель післятравматичної ішемії кінцівки, способи та терміни введення клітинних засобів, протоколи гістологічного та біохімічного досліджень, наведено методи статистичного аналізу. Описані автором методи обробки даних сучасні і відповідають поставленим задачам.

Результати власних досліджень викладено у 4-х розділах дисертації, а також в розділі **«Аналіз та одержаних результатів»**.

У розділі 3 «Структурні зміни у некротизованих м'язах при післятравматичній ішемії кінцівки» автором проведено наукове підґрунття до експериментального вивчення впливу тканинних технологій на розвиток некрозів у м'язах кінцівки при після травматичній ішемії. Наведено результати ультрасонографічного, макроскопічного дослідження скелетних м'язів в умовах ішемії. Експериментально доведено, що шестигодинна турнікетна ішемія призводить до розвитку компартмент синдрому, який переходить у ішемічну контрактуру на 5 добу після епізоду ішемії. За допомогою сонографії визначено, що тотальний та субтотальний некроз м'язів формується на 5, 15 добу після компартмент синдрому переважно у м'язах глибокого футляра гомілки експериментальних тварин. Автором зроблено висновок, 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. Розділ написаний грамотно, проілюстрований достатньою кількістю рисунків.

Четвертий розділ «Пошкодження сідничного нерва після ішемічного пошкодження кінцівки роботи» присвячений дослідженню припущення, що нервово-судинний пучок може бути пошкоджений за умов ішемії кінцівки. Відмічено, що 6-годинна турнікетна ішемія кінцівки викликала значне пошкодження скелетних м'язів з розвитком некрозу м'язової тканини у поверхневих м'язах та гіпотрофію інших, при цьому периферійні нерви, які у супроводі магістральних судин (нервово-судинного пучка) локалізовані у міжм'язовому просторі, залишились майже не ушкодженими. Введення у м'язову тканину досліджуваних засобів також не мало небажаних наслідків щодо морфології периферійних нервів кінцівки. Як і попередній, розділ написано змістовно, добре ілюстрований рисунками.

У п'ятому розділі «Особливості перебігу реактивно-відновлювального періоду ішемічної контрактури та можливість впливу на некротизовані м'язи» було оцінено вплив концентрату тромбоцитарної плазми, концентрату клітин кісткового мозку, аспірату клітин жирової тканини на некротичні зміни скелетних м'язів. На основі проведених гістологічних досліджень автор відмітив, що гіпотрофія скелетних м'язів при 6-годинній турнікетній ішемії розвивається стрімко і безповоротно. При цьому ступінь пошкодження 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. Застосування тканинних технологій лише частково запобігає гіпотрофії м'язу у віддаленому терміні. Введення концентрату тромбоцитарної плазми, клітин кісткового мозку і стромально-

васкулярної фракції жирової тканини не призводить до відновлення м'язової тканини в субфасціальних ділянках. Після введення концентратів тромбоцитів та клітин кісткового мозку структурні зміни автор характеризує як такі, що мають позитивну тенденцію до затримки розвитку фіброзу м'язової тканини і атрофії м'язових волокон.

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 на тлі ішемічного ураження скелетних м'язів. Результати біохімічних досліджень показали істотне зростання у м'язовій тканині активності антиоксидантних ензимів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ) на 15 добу експерименту і навпаки, різким падінням рівня активності глутатіонпероксидази (ГП) у всі терміни експерименту. Підвищена активність СОД і КАТ оцінено як наслідок реперфузійного ушкодження. Результати біохімічних досліджень оброблені методами статистичного аналізу.

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

Статистична обробка отриманих даних виконана за допомогою програмного забезпечення StatPlus ver. 7.3.0. (AnalystSoft Inc. США). Нормальність розподілу вибірки даних проведено за критерієм Колмогорова-Смирнова, міжгрупові розбіжності оцінено за допомогою непараметричного тесту Крускала-Уолліса та однопараметричного аналізу дисперсійних варіацій ANOVA з корекцією Бонферроні.

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

Список використаних у дисертації літературних джерел представлений публікаціями вітчизняних та зарубіжних авторів, які оформлено згідно існуючим стандартам.

У підсумку хочу відмітити, що всі розділи дисертації відповідають змісту роботи, написані послідовно та детально. Представлений у розділах матеріал проілюстрований достатньою кількістю таблиць та рисунків. Наприкінці кожного розділу є резюме із підсумками проведених досліджень та посиланнями на наукові праці, де вони опубліковані.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Автор не порушував принципи академічної доброчесності під час виконання дисертаційного дослідження та написання роботи. Рукопис

дисертації Підлісецького Андрія Теофіловича на тему: «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язів при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)» було перевірено на ознаки плагіату за допомогою програмного забезпечення StrikePlagiarism. Звіт подібності показав Коефіцієнт 1 – 8,44%, Коефіцієнт 2 – 4,20%, що відповідає допороговим значенням подібності символів, слів, словосполучень, та речень в академічних текстах та свідчить про ознаки оригінальності поданого до аналізу тексту.

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. Дані недоліки обговорені з дисертантом і були усунені.

В ході рецензування виникли наступні запитання:

1. Під час експерименту Ви вводили 5 мл ВМАС в задній футляр гомілки. Чи достатньо такої кількості для отримання статистично значимих результатів експерименту?

2. Які з досліджених біохімічних маркерів або їх поєднань були найбільш інформативними і могли б слугувати предикторами несприятливого перебігу ішемічної контрактури у реактивно-відновному періоді?

3. В чому Ви вбачаєте практичні перспективи застосування клітинних технологій при лікуванні ішемічної контрактури у хворих з бойовою травмою кінцівок?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Підлісецького Андрія Теофіловича на тему: «Вплив клітинних технологій на ішемізовані м'язів при післятравматичній ішемії кінцівки (експериментальне дослідження)», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 22 «Охорона здоров'я» 222 «Медицина» є завершеною самостійною науковою роботою, у якій на основі проведених досліджень на високому науковому та методологічному рівні з високим ступенем вірогідності розроблено та обґрунтовано вирішення важливого питання - вивчення впливу 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.

За актуальністю теми, методологією дослідження, достовірністю отриманих результатів, змістом, обґрунтованістю результатів, висновків і

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

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, професор,
завідувач ортопедо-травматологічним
відділенням НДІ реабілітації осіб
з інвалідністю (ннлк) ВНМУ
ім. М.І. Пирогова



Юрій БЕЗСМЕРТНИЙ

*Згідно з процесом Безсмертного Ю.О.
завірено
ст. мек. з кадрів*



Кузьменко О.В.